

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平8-501779

(43) 公表日 平成8年(1996)2月27日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I
A 6 1 K 38/17	ACK		
6/00	ADS Z	7421-4C	
45/08		8415-4C	
		9455-4C	A 6 1 K 37/12 ACK
		9281-4B	C 1 2 N 15/00 ZNA A
	審査請求 未請求	予備審査請求 有	(全 134 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平6-508301
 (86) (22) 出願日 平成5年(1993)9月15日
 (85) 翻訳文提出日 平成7年(1995)3月14日
 (86) 国際出願番号 PCT/US93/08742
 (87) 国際公開番号 WO94/06399
 (87) 国際公開日 平成6年(1994)3月31日
 (31) 優先権主張番号 945, 285
 (32) 優先日 1992年9月15日
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 029, 335
 (32) 優先日 1993年3月4日
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 クリエイティブ バイオモレキュルズ, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 01748 マサチューセッツ, ホプキントン, サウス ストリート 45
 (72) 発明者 クベラサムバス, サンゲーベル
 アメリカ合衆国 02053 マサチューセッツ, メドウェイ, スプリング ストリート シックス
 (74) 代理人 弁理士 藤野 清也 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 モルフォゲン誘導歯周組織再生

(57) 【要約】

治療的に有効な濃度のモルフォゲンからなる歯周組織形態形成を誘導する方法及び組成物が開示されている。本発明の方法及び組成物は歯槽内で移植歯の形成及び歯周病若しくは損傷と関連する組織損失を抑制するのに有用である。

【特許請求の範囲】

1. 哺乳動物の歯槽において、歯の形成を促進する方法で以下のステップからなる方法：

当該濃度が、当該歯槽内で歯周組織形態形成を誘導するのに十分である治療的に有効な濃度のモルフォゲンを歯槽表面に供給する。

2. 治療的に有効な濃度のモルフォゲンを当該表面に供給する当該ステップが当該哺乳動物に治療的に有効な濃度のモルフォゲンを投与するステップからなる請求項 1 記載の方法。

3. 治療的に有効な濃度のモルフォゲンを当該表面に供給する当該ステップが当該哺乳動物に *in vivo* で治療的に有効な濃度の内因性のモルフォゲン産生を促進する薬剤を投与するステップからなる請求項 1 記載の方法。

4. 当該モルフォゲン若しくはモルフォゲン産生促進剤が当該歯槽内の当該歯の移植に先だって歯根表面に散布されている請求項 2 あるいは 3 記載の方法。

5. 当該モルフォゲン若しくはモルフォゲン産生促進剤が当該歯槽内の当該歯の移植に先だって歯槽表面に散布されている請求項 2 あるいは 3 記載の方法。

6. 当該歯根表面が部分的に脱灰されている請求項 4 記載の方法。

7. 当該歯根表面が部分的に脱灰されている請求項 5 記載の方法。

8. 当該歯が移植歯である請求項 1 記載の方法。

9. 当該歯が義歯である請求項 1 記載の方法。

10. 当該義歯が同種異系あるいは自系の歯である請求項 9 記載の方法。

11. 当該治療的に有効な濃度がセメント芽細胞もしくは歯周芽細胞の分化及び増殖を誘導するのに十分なものである請求項 1 記載の方法。

12. 当該治療的に有効な濃度が歯周靱帯若しくはセメント質の形成を誘導するのに十分なものである請求項 1 記載の方法。

13. 当該モルフォゲン若しくはモルフォゲン産生促進剤が無細胞基質材に分散された当該哺乳動物に投与される請求項 2 あるいは 3 記載の方法。

14. 当該基質材が象牙質、歯周靱帯、骨、若しくはセメント質組織由来のもの

である請求項 13 記載の方法。

15. 哺乳動物の歯槽において歯周組織を再生する方法で以下のステップからなる方法：

歯周靱帯若しくはセメント質の形成が誘導されるのに十分な治療的に有効な濃度のモルフォゲンを歯槽部位に供給する。

16. 歯周病と関連する組織損傷を抑制する方法で、以下のステップからなる方法：

損傷の恐れのある歯周組織に治療的に有効な濃度のモルフォゲンを供給する。

17. 哺乳動物での歯周組織損傷を抑制する方法で、当該濃度が損失若しくは損傷した歯周組織の再生を誘導するのに十分である、治療的に有効な濃度のモルフォゲンを移植歯若しくは歯槽表面に供給するステップよりなる方法。

18. 当該モルフォゲン治療濃度が50 μ 以下である請求項1、15、16あるいは17記載の方法。

19. 当該モルフォゲン治療濃度が25 μ g以下である請求項18記載の方法。

20. 当該治療的に有効な濃度が歯周靱帯若しくはセメント質の形成を誘導するのに十分なものである請求項1、15、16、あるいは17記載の方法。

21. 当該治療的に有効な濃度がセメント芽細胞、若しくは歯周芽細胞の増殖及び分化を誘導するのに十分なものである請求項1、15、16、あるいは17記載の方法。

22. 当該モルフォゲンが治療的に有効な濃度のモルフォゲンを当該哺乳動物に投与することにより当該組織に供給される請求項15、16、あるいは17記載の方法。

23. 当該モルフォゲンが治療的に有効な濃度の内因性のモルフォゲンの産生を *in vivo* で促進する薬剤を当該哺乳動物に投与することにより当該組織に供給される請求項15、16、あるいは17記載の方法。

24. 哺乳動物の歯槽内に移植する歯を調整する方法で、当該歯槽が著しく生育可能な歯周組織が減少しており、以下のステップからなる方法：

(a) 移植されるべき歯の外部表面の周囲に治療的に有効な濃度のモルフォゲンを散布し；

(b) 当該歯を受ける歯槽を調製し；そして

(c) 当該歯槽に当該歯を移植する。

25. 当該表面に当該モルフォゲンを散布する前に、歯根表面を部分的に脱灰する付加的なステップからなる請求項24の方法。

26. 哺乳動物の歯を受ける歯槽を調整する方法で、当該歯槽が著しく生育可能な歯周組織が減少しており、以下のステップからなる方法：

(a) 当該歯を受ける歯槽を調製し；

(b) 歯槽表面に治療的に有効な濃度のモルフォゲンを散布し；そして

(c) 当該歯槽に当該歯を移植する。

27. 当該歯根表面が移植前に部分的に脱灰される請求項26記載の方法。

28. 当該モルフォゲンがOP-1、OP-2、CBMP2、Vgl (fx)、Vgr-1 (fx)、DPP (fx)、GDF-1 (fx)、及び60A (fx) からなる群から選択された配列の一つと少なくとも70%以上の相同性を共有するアミノ酸配列からなる請求項1、15、16、17、24、あるいは26記載の方法。

29. 当該モルフォゲンがOP-1、OP-2、CBMP2、BMP3 (fx)、BMP5 (fx)、BMP6 (fx)、Vgl (fx)、Vgr-1 (fx)、DPP (fx)、GDF-1 (fx)、及び60A (fx) からなる群から選択された配列の一つと少なくとも80%以上の相同性を共有するアミノ酸配列からなる請求項28記載の方法。

30. 当該モルフォゲンが配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定される配列と60%以上のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列からなる請求項1、15、16、17、24、あるいは26記載の方法。

31. 当該モルフォゲンが配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定される配列と65%以上のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列からなる請求項30記載の方法。

32. 当該モルフォゲンが、それらの対立形質及び種の変種も含め、配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定できるアミノ酸配列からなる請求項3

1記載の方法。

33. 当該モルフォ・ゲンが一般配列1、2、3、4、5、若しくは6（配列表番号1、2、3、4、30、若しくは31）で特定されるアミノ酸配列からなる請求項1、15、16、17、24、あるいは26記載の方法。

34. 当該モルフォゲンがOPX（配列表番号29）で特定されるアミノ酸配列からなる請求項1、15、16、17、24、あるいは26記載の方法。

35. 当該組成物が症状軽減補助因子と共同して治療的に有効な濃度のモルフォゲンからなる、哺乳動物での歯周組織損失を抑制する組成物。

36. 当該治療的に有効な濃度が歯周組織形態形成を誘導するのに十分なものである請求項35記載の組成物。

37. 当該治療的に有効な濃度が歯槽内での移植歯の形成が促進されるのに十分なものである請求項35記載の組成物。

38. 当該補助因子が抗生物質からなる請求項35記載の組成物。

39. 当該補助因子が抗感染剤からなる請求項35記載の組成物。

40. 当該補助因子が鎮痛剤若しくは麻酔剤からなる請求項35記載の組成物。

41. 当該補助因子がテトラサイクリンである請求項38記載の組成物。

42. 当該モルフォゲンがOP-1、OP-2、CBMP2、Vgl (fx)、Vgr-1 (fx)、DPP (fx)、GDF-1 (fx)、及び60A (fx) からなる群から選択された配列の一つと少なくとも70%以上の相同性を共有するアミノ酸配列からなる請求項35記載の組成物。

43. 当該モルフォゲンがOP-1、OP-2、CBMP2、BMP3 (fx)、BMP5 (fx)、BMP6 (fx)、Vgl (fx)、Vgr-1 (fx)、DPP (fx)、GDF-1 (fx)、及び60A (fx) からなる群から選択された配列の一つと少なくとも80%以上の相同性を共有するアミノ酸配列からなる請求項42記載の組成物。

44. 当該モルフォゲンが配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定される配列と60%以上のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列からなる請求項43記載の組成物。

45. 当該モルフォゲンが配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定

される配列と 65% 以上のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列からなる請求項 44 記載の組成物。

46. 当該モルフォゲンが、それらの対立形質及び種の変種も含め、配列表番号 5 (hOP1) の残基 43-139 で特定できるアミノ酸配列からなる請求項 45 記載の組成物。

47. 当該モルフォゲンが一般配列 1、2、3、4、5、若しくは 6 (配列表番号 1、2、3、4、30、若しくは 31) で特定されるアミノ酸配列からなる請求項 46 記載の組成物。

48. 当該モルフォゲンが OPX (配列表番号 29) で特定されるアミノ酸配列からなる請求項 47 記載の組成物。

49. 当該モルフォゲンが無細胞基質に散布されている請求項 35 記載の組成物。

50. 当該無細胞基質が象牙質、骨、歯周靱帯、若しくはセメント質組織である請求項 49 記載の組成物。

51. 当該組成物が高粘度溶液からなる請求項 35 記載の組成物。

52. 当該供給されるモルフォゲン種がプロ型からなる請求項 1、15、16、あるいは 17 記載の方法。

53. 当該供給されるモルフォゲン種がプロ型からなる請求項 32 記載の方法。

54. 当該モルフォゲンが対立形質及び種の変種も含み、配列表番号 16 (hOP1) の残基 30-431 で特定されるアミノ酸配列からなる請求項 53 記載の方法。

55. 当該供給されるモルフォゲン種がプロ型からなる請求項 35 の組成物。

56. 当該供給されるモルフォゲン種がプロ型からなる請求項 46 の組成物。

57. 当該モルフォゲンが対立形質及び種の変種も含み、配列表番号 16 (hOP1) の残基 30-431 で特定されるアミノ酸配列からなる請求項 55 記載の組成物。

58. 当該薬剤が歯周組織、象牙質、若しくは歯槽骨以外の組織でモルフォゲンの発現を促進する請求項 3 あるいは 23 記載の方法。

59. 歯槽内で歯の形成を促進する薬剤の製造におけるモルフォゲンの使用。

60. 歯周組織を再生する、若しくは歯周病と関連する歯周組織損失、若しくは損傷を抑制する医薬品の製造におけるモルフォゲンの使用。

61. 当該モルフォゲンがOP-1、OP-2、CBMP2、Vgl (fx)、Vgr-1 (fx)、DPP (fx)、GDF-1 (fx)、及び60A (fx) からなる群から選択された配列の一つと少なくとも70%以上の相同性を共有するアミノ酸配列からなる請求項59、あるいは60記載による使用。

62. 当該モルフォゲンがOP-1、OP-2、CBMP2、BMP3 (fx)、BMP5 (fx)、BMP6 (fx)、Vgl (fx)、Vgr-1 (fx)、DPP (fx)、GDF-1 (fx)、及び60A (fx) からなる群から選択された配列の一つと少なくとも80%以上の相同性を共有するアミノ酸配列からなる請求項61記載による使用。

63. 当該モルフォゲンが配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定される配列と60%以上のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列からなる請求項59、あるいは60記載による使用。

64. 当該モルフォゲンが配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定される配列と65%以上のアミノ酸同一性を有するアミノ酸配列からなる請求項63記載による使用。

65. 当該モルフォゲンが、それらの対立形質及び種の変種も含め、配列表番号5 (hOP1) の残基43-139で特定できるアミノ酸配列からなる請求項63記載による使用。

66. 当該モルフォゲンが一般配列1、2、3、4、5、若しくは6 (配列表番号1、2、3、4、30、若しくは31) で特定されるアミノ酸配列からなる請求項59、あるいは60記載による使用。

67. 当該モルフォゲンがOPX (配列表番号29) で特定されるアミノ酸配列からなる請求項59、あるいは60記載による使用。

68. 当該モルフォゲンが配列表番号16のヌクレオチド1036-1341、若しくは配列表番号20のヌクレオチド1390-1695で特定されるDN

A配列と厳密な条件下でハイブリダイズする核酸がコードするポリペプチド鎖からなる請求項1、15、16、17、35、59、あるいは60記載の発明。

69. 当該モルフォゲンがモルフォゲンファミリーの一員、若しくはそれらの対立形質、種、若しくは他の配列変種のプロ領域からなるペプチドと複合体を形成した2量体蛋白質種からなる請求項1、15、16、17、35、59、あるいは60記載の発明。

70. 当該2量体モルフォゲン種が当該ペプチドと非共有結合で複合体を形成している請求項69記載の発明。

71. 当該2量体モルフォゲン種が当該ペプチドと複合体を形成している請求項69記載の発明。

72. 当該ペプチドが当該プロ領域を特定する配列の少なくとも最初の(N末から)18のアミノ酸からなる請求項69記載の発明。

73. 当該ペプチドが当該プロ領域の全長型からなる請求項72の発明。

74. 当該ペプチドが配列表番号16のヌクレオチド136-192、若しくは配列表番号20のヌクレオチド157-211で特定されるDNAと厳密な条件下でハイブリダイズする核酸からなる請求項69記載の発明。

75. 当該複合体が塩基性アミノ酸、界面活性剤、若しくは担体蛋白質に曝されてさらに安定化される請求項69記載の発明。

【発明の詳細な説明】

モルフォゲン誘導歯周組織再生

発明の背景

本発明は全般に歯科技術に関する、さらに具体的には歯周組織の治療及び再生のための方法及び組成物に関する

歯周組織は歯槽に歯を固定することにより下顎あるいは上顎の顎骨に歯根を固定する衝撃緩和組織である。歯周組織は歯周靱帯、骨組織と接触しているコラーゲン含有組織、及び歯根表面を覆っている硬組織であるセメント質も含まれる。これらの二つの硬組織は二つの表面に垂直方向に走っている歯周靱帯を通じて結合されており、それによって、歯槽に歯を固定し、食物が噛まれたときに歯にかかる圧力に順応する歯と顎骨の間の衝撃吸収クッションを提供する。

歯周組織損失は感染症（例えば、細菌による歯肉炎）、栄養学的病気、例えば、ビタミン不足からくる壊血病、白血病やリンパ腫を含む多くの腫瘍病等を含む病気の結果、起こりうる。炎症、出血や潰瘍等に特徴づけられる病気である。歯周組織の病気は、例えば、免疫機能低下した人の日和見感染の結果から起こりうる。治療しないで放置しておく、これらの病気は歯を緩める著しい歯周組織損失の原因になり、最終的には歯と歯槽骨の損失につながる（歯周炎）。慢性歯周炎は成人の歯の損失の一番の原因である。現在の治療は歯苔や歯石を除去する技術士による洗浄、経口抗感染症剤、局所、及び／あるいは全身性の抗生物質療法、及び／あるいは歯周組織病変及び壊死から形成される歯周嚢を除去する外科的手術が含まれる。典型的なものでは、歯が歯周炎の結果なくなったところでは、義歯や取り外し可能なブリッジが生来の歯の代用になる。

歯周組織損失は組織、あるいは歯自身に対する、特に歯の損失につながるような機械的損傷の結果からも起こりうる。歯の損失は、また、多くの歯の病気例えば、虫歯、歯髄炎、あるいは骨髓炎等の結果からも起こりうる。

活きた歯はもし損失直後に、例えば30分以内に、そしてもし歯槽内の歯周組

織がまだ健全であれば移植すれば、再移植できる。しかしながら、かなり長い時間が経過してしまうと、歯槽に沿った活着している歯周組織は再吸収されるである

う。さらに、歯自身が分解を始め、義歯や取り外し可能なブリッジが移植されなければならなくなる。健全な歯周組織がない場合、義歯が、硬直（骨組織が象牙質と直接接触している）と呼ばれる状況下で直接顎骨組織に移植される。そのような義歯移植の寿命は歯の固定を昂進したり、義歯の咀嚼の衝撃を吸収する活きた歯周組織が無いためしばしば限度がある。

本発明の目的は、歯周組織損失を抑制する手段、及び損傷した歯周組織の再生を誘導する手段を提供することにある。

他の目的は、歯周、及び他の歯肉の病気と関連する歯周組織損傷や歯の損失を抑制する手段を提供することにある。

さらに他の目的は、歯槽内で、再移植された生来の歯あるいは義歯も含む移植歯の形成を昂進することにある。

さらに他の目的は、移植歯の周囲で歯周組織の成長を促進することにある。

他の目的は、移植歯または義歯の骨性癒着を抑制することにある。

本発明の、これらや他の目的及び特徴については以下の如く明細書、図、請求項より明らかである。

発明の要約

本発明は哺乳類の、特に人間の、損傷した組織の再生、及び／あるいはそれらの更なる損傷を抑制することも含め、歯周組織損失を抑制する方法、及び組成物を提供する。本発明の方法や組成物は移植歯の形成を昂進すること、及び歯の損失を予防、及び／あるいは抑制するのに使用される。

ここで用いられるように、“移植歯”は歯槽内で自然に成長してきた自然歯と義歯を含み、歯根から除去され不活性の生体内適合性素材で置換された自然歯と自然、あるいは合成の、象牙質の無い素材でできた“完全な”義歯も含む義歯が含まれる。全ての場合、“歯”というとは本質的に自然歯の形を特定し、歯冠と歯根を含む固体の歯体を有する天然あるいは合成の組成物をいう。”再移植した自

然歯”は、例えば、歯のバンクから選ばれた同種異系の歯および抜けたり、打って抜けたり、若しくは現在再移植されている人からぬきとられたりした歯のような自系の歯も含まれる。”形成歯”とは、活きた、実質的に健全な、歯周靱帯や

セメント質を含み、歯を顎骨に固定する歯周組織のある移植歯を意味する。”活きた”組織とは生存している実質的に健全な組織を意味する。”活きた歯”とは生存している歯根を有する移植自然歯をいう。”歯周組織”とは歯槽内の歯を囲み、歯周靱帯やセメント質を含む組織を特定する。ここで用いられている、歯周組織の”損失を抑制する”とは、損失、若しくは損傷した組織の再生、及び／あるいはそれへの更なる損傷を抑制することも含み、歯周靱帯、及び／若しくはセメント質を含む歯周組織への損傷、及び／あるいは損失を抑制することを意味する。”症状軽減補助因子”とは、本発明の治療剤と共に投与でき、歯周組織損失と関連する典型的な症状の一つ以上を軽減あるいは緩和する一つ以上の医薬品をいう。例示できる補助因子としては、抗生物質、抗感染症剤、非ステロイド系炎症剤、麻酔剤及び鎮痛剤が挙げられる。

本発明の方法及び組成物には、ここで開示されるように、歯槽内の顎骨表面に供給されたとき、歯周組織が損失、若しくは損傷されているところで、歯周組織形成を誘導でき、それによって移植歯の形成を昂進できる形態形成性蛋白質（”モルフォゲン”）が含まれる。

一面では、本発明は、治療的に有効な濃度で、損傷した歯周組織を再生、及び／若しくはそれへの更なる損傷を抑制するのに十分な時間、モルフォゲンを人に投与し哺乳類での歯周組織損失を抑制する治療処置方法と組成物を特徴とする。他面では、本発明は、人に損傷した歯周組織の再生、及び／若しくはそれへの更なる損傷を抑制するのに十分な哺乳類の生体の治療的に有効な濃度の内因性モルフォゲンの *in vivo* での産生を促進する化合物を投与することを含む哺乳類での歯周組織損失を抑制する治療処置法及び組成物を特徴とする。これらの化合物は、ここではモルフォゲン産生促進剤といい、哺乳類に投与した際、通常モルフォゲンを産生する、及び／もしくはモルフォゲンを分泌を果たす、あるいはでき、モルフォゲンの内因性のレベルを変化させる組織、若しくは器官の細

胞に作用する物質を含むと理解される。薬剤は、例えば、内因性のモルフォゲンの発現、及び／あるいは分泌を促進することによって作用することができる。好ましい具体例は、薬剤が歯槽骨、歯周組織若しくはセメント質組織細胞のモルフ

ォゲン量を増加させるように内因性モルフォゲンの発現、及び／あるいは分泌を促進する。

他の面では、本発明は、特に活きた歯周組織で歯槽が実質的に減少するところで、移植歯の形成を促進するための方法と組成物を提供するものである。実際、本発明の方法、及び組成物は歯槽が30-50%の歯周靱帯、そして50-100%の歯周靱帯を損失したとき効果が良い。方法及び組成物は歯や歯槽表面に、歯周組織の形態形成を誘導するのに十分な治療的に有効な濃度のモルフォゲンあるいはモルフォゲン産生促進剤を供給することからなる。移植歯は、歯槽内で成長した移植歯、あるいは、例えば、機械的損傷、歯科若しくは歯周の病気により、緩んだ移植歯であっても良い。別の選択では、移植歯は空の歯槽に再移植された損失した歯、あるいは義歯であっても良い。義歯は損傷した、若しくは病気の歯根から除去され生体内適合性の、歯根管法で作られる生物学的に不活性の素材で置換された自然歯を含む。義歯は、また合成の、象牙質の無い素材から作ることができる。

モルフォゲンは移植されるべき歯の表面に、及び／あるいは歯が移植される歯槽に直接供給することができる。モルフォゲンが組織層に移植されるところに歯槽表面へ局所投与、あるいは槽と結合している歯周若しくは歯槽骨組織へ局所注射により供給することが出来る。別の選択では、治療的に有効な濃度の内因性モルフォゲンの産生、及び／若しくは分泌を促進することができる薬剤を歯、若しくは歯槽に供給することができる。モルフォゲン、若しくはモルフォゲン産生促進剤（ここでは集合的に”治療剤”という）が歯表面に供給されるところに好ましくは、生体内適合性、若しくは生体内吸収性の担体、さらに好ましくは組織表面に治療剤を保持できる、及び／若しくは歯槽に薬剤の放出を調節できる担体に散布される。治療剤は、また好ましくは組織表面に治療剤を保持できる、及び／若しくは歯槽に薬剤の調節された放出を促進できる担体に結合して歯槽自身へ供

給することができる。有用な担体としては、グリセリン等のようなものによって供給される高粘度の組成物やラミニン、若しくはコラーゲンを含む細胞外基質から製剤化される担体素材、及び／あるいはポリ酪酸、ポリ乳酸、ポリグリコール

酸及びそれらのコポリマーのような生体内適合性合成ポリマーが含まれる。さらに、あるいは別の選択では無細胞坦体素材は本質的に、本出願、及び／若しくは国際出願 US 92/01968 (WO 92/15323) で開示されているように骨、象牙質、セメント質若しくは歯周組織を脱灰及び組織をグアニジン抽出して製剤化される。特に有用な無細胞基質は象牙質由来の、歯周靱帯由来の及びセメント質由来の基質が含まれる。さらに移植される歯は、好ましくはそこに治療剤を吸着でき、そしてセメント芽細胞の前駆細胞及び分化しつつあるセメント芽細胞が浸潤し増殖できる多孔性の外部表面からなる。有用な表面は、コラーゲン、ラミニンのような基質素材、生体内適合性ポリマー、若しくは酸化チタンのような金属類からなる表面も含み、天然歯根表面及び多孔性義歯表面が含まれる。天然歯若しくは象牙質含有義歯が移植されるところで、例えば、一時的に酸に曝され歯根表面の多孔性を昂進するなど、移植される表面を部分的に脱灰することができる。

好ましくは、歯が歯槽内に移植されるべきところで、歯の損失や歯周組織の再吸収により生成した繊維性組織が歯槽内にない方がよい。例えば、はん痕が傷を覆って形成するなどのように、歯の損失や除去に伴って歯槽は数カ月の期間で治癒していく。この場合、治癒される歯槽は、好ましくは、歯槽骨表面がでてくるように、はん痕や他の望ましくない組織を除去するなどして歯の移植のため外科的に調製した方がよい。

好ましくは、治療剤が移植歯の周囲の歯周組織の生存性を昂進するのに供給されるべきところでは、治療剤を歯と歯肉の間の組織表面に局所に供給する方がよい。別の選択では、薬剤を局所に、例えば歯肉自身に注射することができる。

ここで開示されるモルフォゲンは歯周組織損失を抑制し、及び／あるいは歯周病により損傷の恐れのある歯周組織の生存性を昂進することができる。歯周病は細菌、真菌、若しくはウイルス等の感染性物質、あるいはビタミン不足も含む栄

養欠乏などによりおこりうる。モルフォゲンは扁平上皮癌、急性白血病、リンパ腫及び転移性癌等を含む腫瘍性病気の結果損失した歯周組織損失を再生するのに用いることができる。歯周組織の損傷若しくは破壊する病気について詳細な説明

は、例えば、Harrison's Principles of Internal Medicine, 243-248, (McGraw - Hill 12thed. 1991) に記載されている。この開示は引用されることによりここに組み込まれる。炎症反応の調節における本出願で開示するモルフォゲンの有効性は国際出願US 92/07358 (WO 93/04692) に詳しく開示されている。

全ての人が、特に成人では、歯周病により歯周組織損傷の恐れのある状態であるが、特に最も危険な状態の人は、自己免疫疾患にかかっていたり、及び／若しくは臨床の処置や治療の一部として免疫系が抑制されている人である。このように、他の面では、本発明は免疫機能の低下したヒトの歯周組織の損失を抑制するための方法及び組成物を提供する。

国際出願WO 92/15323 及び以下の実施例2に開示されているように本出願で開示されるモルフォゲンは損傷した若しくは損失した象牙質組織の形成を誘導することもできる。従って、天然歯若しくは象牙質含有義歯が移植されるところで、モルフォゲン、若しくはモルフォゲン産生促進剤を損傷、若しくは損失した象牙質組織の象牙質再生を誘導するのに歯の損傷した区域に供給することができる。モルフォゲンを歯の組織へ局所的に、あるいは他の方法で投与することができる。例えば、モルフォゲンを、その後損傷した象牙質組織に局所的に供給する生体内適合性で多孔性の担体素材に分散することができる。有用な担体としては、無細胞基質を作る組織を脱灰及びグアニジン抽出することにより象牙質から作ることができる。

モルフォゲン及びモルフォゲン産生促進剤を、損傷した歯周組織を治療するのに有効なことが知られている他の分子（"補助因子"）、特に歯周組織損傷、及び／若しくは損失と関連する典型的な症状を緩和あるいは軽減することができる補助因子と共に歯周組織へ供給することもできる。そのような補助因子として、クロロヘキシジンやヨウ化チベゾニウムのような抗感染症剤、テトラサイクリン、

アミノグリコシド、マクロライド、ペニシリンやセファロスポリン等の抗生物質、麻酔剤や鎮痛剤や他の非ステロイド系抗炎症剤が含まれる。

本発明の有用なモルフォゲンの中でOP-1、OP-2、CBMP 2蛋白質のような骨形成蛋白（参考文献として引用して、ここに組み込まれる米国特許5、011、691号を参照）や、DPP（猩々蠅から）、Vgl（爪蛙から）、Vgr-1（マウスから）、GDF-1（マウスから、Lee（1991）PNAS 88:4250-4254参照）（これらの全ては表IIと配列表番号5-14に示されている）、および、最近同定された60A蛋白（猩々蠅から、配列表番号24、Whartonら（1991）PNAS 88:9214-9218参照）のようなアミノ酸配列関連蛋白質として、もともと同定された蛋白質である。

このファミリーは、TGF- β スーパーファミリーのサブクラスであるが、C末領域にかなりのアミノ酸配列のホモロジーを共有している。蛋白質はN末シグナルペプチド配列、典型的には約30以下の残基で、切断されて成熟型を生成させる”プロ”ドメインを有する前駆体として翻訳される。蛋白質の”プロ”型は、プロドメインと成熟ドメインを含み培養哺乳動物細胞から分泌される一次型と考えられる可溶型種を生成する。

シグナルペプチドはVon Heijneの方法（（1986）Nucleic Acids Research 14:4683-4691。）を用いて、特定の配列中の予測される切断箇所、翻訳時に、早く切断される。

下記の表Iは、本出願で使用される命名法、配列表番号、配列リストに含まれない蛋白質全長のアミノ酸配列の文献名について開示してある。これらの文献の開示は参考に引用している。

表 I

”OP-1” はそれらの対立形質や種の変種、例えばヒトOP-1（”hOP-1”配列表番号5、成熟蛋白質アミノ酸配列）、又はマウスOP-1（”mOP-1”配列表番号6、成熟蛋白質アミノ酸配列

）なども含むOP-1蛋白質をコードするDNA配列の、一部若しくは全部から発現された形態形成活性を有する蛋白質の群を総称的に指して云う。保存された7個のシステイン骨格は配列表番号5と6の残基38から139までで特定され

る。蛋白質の全長をコードするcDNA及びアミノ酸配列は配列表番号16と17(hOP1)に、配列表番号18と19(mOP1)に示されている。当該蛋白質のプロ領域は切断されて形態形成活性を有する成熟蛋白質を生じるが、本質的に残基30-292(hOP1)と残基30-291(mOP1)により特定される。

”OP-2” はそれらの対立形質や種の変種、例えばヒトOP-2(”hOP-2” 配列表番号7、成熟蛋白質アミノ酸配列)、又はマウスOP-2(”mOP-2” 配列表番号8、成熟蛋白質アミノ酸配列)なども含むOP-2蛋白質をコードするDNA配列の一部、若しくは全部から発現された形態形成活性を有する蛋白質の群を総称的に指して云う。保存された7個のシステイン骨格は配列表番号7と8の残基38-139で特定される。蛋白質の全長は配列表番号20と21(hOP2)に、配列表番号22と23(mOP2)に示されている。成熟蛋白質は残基264-402(hOP2)と261-399(mOP2)に特定されている。当該蛋白質のプロ領域は切断されて成熟で、形態形成活性を有する蛋白質を生じるが、本質的に残基18-263(hOP2)と残基18-260(mOP2)により特定される。

”CBMP2” はそれらの対立形質や種の変種、例えばヒトCBMP2(”CBMP2A(fx)” 配列表番号9、成熟蛋白質アミノ酸配列)、又はヒトCBMP2B DNA(”CBMP2B(fx)” 配列表番号10、成熟蛋白質アミノ酸配列)なども含むOP-2蛋白

質をコードするDNA配列の一部、若しくは全部から発現された形態形成活性を有する蛋白質の群を総称的に指して云う。蛋白質全長のアミノ酸配列はBMP2AやBMP2B、又はBMP4AやBMP4Bとして文献に言及されておりWozneyら(1988) Science 242:1528-1534. に、それぞれ記載されている。BMP2(BMP2A)のプロドメインは残基25-248を含んでおり;成熟蛋白質は残基249-396を含む。BMP4(BMP2B)のプロ領域は、残基25-256を含む;成熟蛋白質は残基257-408を含む。

” DPP (f x) ”

は猩々蠅のDPP遺伝子をコードされ、保存された7個のシステイン骨格（配列表番号11）を特定する蛋白質の配列を指して云う蛋白質全長のアミノ酸配列はPadgettら（1987）Nature 325:81-84に発表されている。プロドメインは、シグナルペプチド切断部位から残基456まで続いている。成熟蛋白質は、残基457-588で特定される。

” Vgl (f x) ”

は爪蛙のVgl遺伝子によりコードされ、保存されたシステイン骨格（配列表番号12）を特定する蛋白質配列を指して云う。蛋白質の全長のアミノ酸配列はWeeks（1987）Cell 51:861-867に記載されている。プロドメインはシグナルペプチド切断部位から残基246まで続いている；成熟蛋白質は残基247-360で特定できる特定する。

” Vgr-1 (f x) ”

はマウスVgr-1遺伝子によりコードされ、保存された7個の

システイン骨格（配列表番号13）を特定する蛋白質配列を指して云う。蛋白質の全長のアミノ酸配列はLyonsら（1989）PNAS 86:4554-4558に記載されている。プロドメインはシグナルペプチド切断部位から残基299まで続いている；成熟蛋白質は残基300-438で特定される。

” GDF-1 (f x) ”

はヒトGDF-1遺伝子によりコードされ、保存された7個のシステイン骨格（配列表番号14）を特定する蛋白質配列を指して云う。蛋白質の全長のアミノ酸配列は配列表番号32に記載されている。プロドメインは、シグナルペプチド切断部位から残基214まで続いている；成熟蛋白質は残基215-372で特定される。

” 60A ” は60A蛋白質（配列表番号24、そこには蛋白質全長のcDNAとアミノ酸配列が示されている）をコードするDNA配列（猩々蠅の60A遺伝子）の一部、若しくは全部から発現された形態形成活性を有する蛋白質の群を総称的に指して云う。” 60A (f x) ” とは保存された7個のシステイン骨格（

配列表番号24の残基354-455)で特定される蛋白質配列を云う。プロドメインはシグナルペプチド切断部位から残基324まで続いている；成熟型蛋白質は残基325-455で特定される。

” BMP3 (fx) ”

はヒトBMP3遺伝子によりコードされ、保存された7個のシステイン骨格(配列表番号26)を特定する蛋白質配列を指して云う。蛋白質の全長のアミノ酸配列はWozoneyら(1988)242:1528-1534に記載されている。プロドメイ

ンは、シグナルペプチド切断部位から残基290まで続いている；成熟蛋白質は残基291-472で特定される。

” BMP5 (fx) ”

はヒトBMP5遺伝子によりコードされ、保存された7個のシステイン骨格(配列表番号27)を特定する蛋白質配列を指して云う。蛋白質の全長のアミノ酸配列はCelesteら(1990)PNAS 87:9843-9847に記載されている。プロドメインはシグナルペプチド切断部位から残基316まで続いている；成熟蛋白質は残基317-454で特定される。

” BMP6 (fx) ”

はヒトBMP6遺伝子によりコードされ、保存された7個のシステイン骨格を特定する蛋白質配列を指して云う。蛋白質の全長のアミノ酸配列はCelesteら(1990)PNAS 87:9843-9847に記載されている。プロドメインはシグナルペプチド切断部位から残基374まで続いている；成熟蛋白質は残基375-513で特定される。

OP-2蛋白質はこのファミリーの他の蛋白質と共通する保存されたシステイン骨格の他の保存された領域にもう一つのシステイン残基を有している(例えば配列表番号7と8の残基41参照)。GDF-1蛋白質は保存された骨格に4個のアミノ酸が挿入されている(配列表番号14の残基44-47)が、この挿入は、おそらく折りたたまれた構造中のシステインとの関係に影響を与えないであろう。さらにCBMP2蛋白質はシステイン骨格の一アミノ酸残基を欠いている

。モルフォゲン種は還元されると不活性であるが、酸化型ホモ 2 量体として、及び本発明の他のモルフォゲンとの併用で酸化されると活性である。このように、ここで特定されるように、可溶性モルフォゲン複合体に有用なモルフォゲンは一

対のポリペプチド鎖からなる 2 量体蛋白質であり、その各ポリペプチド鎖はこれらのシステインと機能的に同等な配列（配列中のシステインの 1 次配列を変えるアミノ酸の挿入や削除、しかし折りたたまれた構造の関係は変えない）も含む、配列表番号 5 の残基 43-139 で特定される、少なくとも C 末の 6 個のシステイン骨格からなる。そのようにして、ポリペプチド鎖が折りたたまれたとき一对のポリペプチド鎖からなる 2 量体蛋白質種は、本発明で特定しているようにモルフォゲンとして作用する事が出来るように、適当な鎖内および鎖間のジスルフィド結合も含め、適当な 3 次元構造をとる。特にモルフォゲンは一般に形態学的に許容しうる環境で以下の生物学的機能の全てが可能である：前駆体細胞の増殖を促進する；前駆体細胞の分化を促進する；分化した細胞の増殖を促進する；分化した細胞の成長と維持を助長する。さらに、これらのモルフォゲンは適当な環境条件下で目的の細胞の再分化を誘導することができることもまた予測される。

一つの好ましい局面では、本発明のモルフォゲンは 2 種の一般アミノ酸配列の一つからなる：一般配列 1（配列表番号 1）あるいは一般配列 2（配列表番号 2）；ここで、各 X a a は 20 の天然に生じる L-異性体、 α -アミノ酸あるいはそれらの誘導体の一つを示す。一般配列 1 は保存された 6 個のシステイン骨格からなり、一般配列 2 は保存された 6 個のシステイン骨格と、OP-2（配列表番号 2 の残基 36）で同定されたさらに別のシステインからなる。他の好ましい局面では、これらの配列は、さらに、それらの N 末に以下の付随する配列からなる

。

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa （配列表番号 15）

1 5

前述の一般配列のうちの好ましいアミノ酸配列は以下のものを含む：一般配列 3（配列表番号 3）、一般配列 4（配列表番号 4）、一般配列 5（配列表番号 3

0) 一般配列6 (配列表番号31)。これらの一般配列は表IIで特定されるこのモルフォゲンファミリーの各種の好ましい一員の間で、それらのアミノ酸配列変種と同様共有する相同性を含む。一般配列3と4は表IIで示され、特定の、配列表番号5-14で同定される蛋白質の混成アミノ酸配列である：ヒトOP-1

(hOP-1、配列表番号5、及び16-17)、マウスOP-1 (mOP-1、配列表番号6、及び18-19)、ヒト及びマウスOP-2 (配列表番号7、8、及び20-22)、CBMP2A (配列表番号9)、CBMP2B (配列表番号10)、DPP (猩々蠅より、配列表番号11)、Vgl (爪蛙、配列表番号12)、Vgr-1 (マウスから、配列表番号13)、GDF-1 (マウスから、配列表番号14)。一般配列は表IIの配列その配列のなかで変化させうる位置に別の残基のものと同様に共有するアミノ酸同一性を含む。これらの一般配列は、一般配列3と4の41と46の位置に、それぞれさらにシステインを付加し、分子間若しくは分子内ジスルフィド結合を形成できる適当なシステイン骨格を供給し、そして蛋白質の3次構造に影響する一定の重要なアミノ酸を含む。

一般配列3

```

      L e u   T y r   V a l   X a a   P h e
      1                               5
X a a   X a a   X a a   G l y   T r p   X a a   X a a   T r p   X a a
      10
X a a   A l a   P r o   X a a   G l y   X a a   X a a   A l a
      15                               20
X a a   T y r   C y s   X a a   G l y   X a a   C y s   X a a
      25                               30
X a a   P r o   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a
      35
X a a   X a a   X a a   A s n   H i s   A l a   X a a   X a a
      40                               45
X a a   X a a   L e u   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a
      50
X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   C y s
      55                               60
C y s   X a a   P r o   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a
      65
X a a   X a a   X a a   L e u   X a a   X a a   X a a
      70                               75
X a a   X a a   X a a   X a a   V a l   X a a   L e u   X a a
      80
X a a   X a a   X a a   X a a   M e t   X a a   V a l   X a a
      85                               90
X a a   C y s   G l y   C y s   X a a

```

ここで各 X a a は以下のように特定された一以上のアミノ酸からなる群から独立的に選択される：“ R e s ” は“ 残基 ” を意味する。

残基4. のX a a = S e r , A s p または G l u) ; 残基6. のX a a = (A r g , G l n , S e r , または L y s) ; 残基7. のX a a = (A s p または G l u) ; 残基8. のX a a = (L e u , または V a l) ; 残基11. の

Xaa = (Gln, Leu, Asp, His, または Asn) ; 残基12.
 のXaa = (Asp, Arg, または Asn) ; 残基14. のXaa = (Ile
 または Val) ; 残基15. のXaa = (Ile または Val) ; 残
 基18. のXaa = (Glu, Gln, Leu, Lys, Pro または Ar
 g) ; 残基20. のXaa = (Tyr または Phe) ; 残基21. のXaa
 = (Ala, Ser, Asp, Met, His, Leu または Gln) ; 残
 基23. のXaa = (Tyr, Asn または Phe) ; 残基26. のXaa
 = (Glu, His, Tyr, Asp, または Gln) ; 残基28. のXaa
 = (Glu, Lys, Asp, または Gln) ; 残基30. のXaa = (Al
 a, Ser, Pro, または Gln) ; 残基31. のXaa = (Phe, Le
 u または Tyr) ; 残基33. のXaa = (Leu, または Val) ; 残
 基34. のXaa = (Asn, Asp, Ala, または Thr) ; 残

基35. のXaa = (Ser, Asp, Glu, Leu, または Ala) ; 残
 基36. のXaa = (Tyr, Cys, His, Ser または Ile) ; 残
 基37. のXaa = (Met, Phe, Gly または Leu) ; 残基38.
 のXaa = (Asn または Ser) ; 残基39. のXaa = (Ala, Se
 r, または Gly) ; 残基40. のXaa = (Thr, Leu または Se
 r) ; 残基44. のXaa = (Ile, または Val) ; 残基45. のXaa
 = (Val, または Leu) ; 残基46. のXaa = (Gln または Ar
 g) ; 残基47のXaa = (Thr, Ala またはSer) ; 残基49. のX
 aa = (Val または Met) ; 残基50のXaa = (His, または A
 sn) ; 残基51. のXaa = (Phe, Leu, Asn, Ser, Ala ま
 たは Val) ; 残基52. のXaa = (Ile, Met, Asn, Ala,
 または Val) ; 残基53. のXaa = (Asn, Lys, Ala, またはG
 lu) ; 残基54. のXaa = (Pro, または Ser) ; 残基55. のXa
 a = (Glu, Asp, Asn, または Gly) ; 残基56. のXaa = (T
 hr, Ala, Val, Lys, Asp, Tyr, Ser, または Ala) ;
 残基57. のXaa = (Val, Ala または Ile) ; 残基58. のXa

a = (Pro または Asp) ; 残基59. のXaa = (Lys, または Ileu) ; 残基60. のXaa = (Pro, または Ala) ; 残基63. のXaa = (Ala または Val) ; 残基65. のXaa = (Thr, または Ala) ; 残基66. のXaa = (Gln, Lys, Arg または Glu) ; 残基67. のXaa = (Leu, Met または Val) ; 残基68. のXaa = (Asn, Ser, または Asp) ; 残基69. のXaa = (Ala, Pro または Ser) ; 残基70. のXaa = (Ile, Thr, または Val) ; 残基71. のXaa = (Ser, または Ala) ; 残基72. のXaa = (Val, または Met) ; 残基74. のXaa = (Tyr または Phe) ; 残基75. のXaa = (Phe, Tyr, または Leu) ; 残基76. のXaa = (Asp, または Asn) ; 残基77. のXaa = (Asp, Glu, Asn, または Ser) ; 残基78. のXaa = (Ser, Gl

n, Asn, または Tyr) ; 残基79. のXaa = (Ser, Asn, Asp, または Glu) ; 残基80. のXaa = (Asn, Thr または Lys) ; 残基82. のXaa = (Ile, または Val) ; 残基84. のXaa = (Lys または Arg) ; 残基85. のXaa = (Lys, Asn, Gln, またはHis) ; 残基86. のXaa = (Tyr, または His) ; 残基87. のXaa = (Arg, Gln, または Glu) ; 残基88. のXaa = (Asn, Glu, または Asp) ; 残基90. のXaa = (Val, Thr, または Ala) ; 残基92. のXaa = (Arg, Lys, Val, Asp, または Glu) ; 残基93. のXaa = (Ala, Gly, または Glu) ; 残基97. のXaa = (His または Arg)

一般配列4

Cys	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Tyr	Val	Xaa
1				5				
Phe	Xaa	Xaa	Xaa	Gly	Trp	Xaa	Xaa	Trp
10					15			
Xaa	Xaa	Ala	Pro	Xaa	Gly	Xaa	Xaa	Ala
	20					25		
Xaa	Tyr	Cys	Xaa	Gly	Xaa	Cys	Xaa	
		30					35	
Xaa	Pro	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa		
				40				
Xaa	Xaa	Xaa	Asn	His	Ala	Xaa	Xaa	
		45					50	
Xaa	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	
				55				
Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	
		60				65		
Cys	Xaa	Pro	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	
				70				
Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa		
	75				80			
Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Val	Xaa	Leu	Xaa	
			85					
Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Met	Xaa	Val	Xaa	
	90				95			
Xaa	Cys	Gly	Cys	Xaa				
			100					

ここで各 Xaa は以下のように特定された一以上のアミノ酸からなる群から独立的に選択される: "Res" は"残基"を意味する。

残基. 2のXaa=(Lys または Arg); 残基. 3のXaa=(Lys

または Arg) ; 残基 4 の Xaa = (His または Arg) ; 残基 5
の Xaa = (Glu、Ser、His、Gly、Arg、または Pro) ;
残基 9 の Xaa = (Ser、Asp、または Glu) ; 残基 11 の Xaa
= (Arg、Gln、Ser、または Lys) ; 残基 12 の Xaa = (Asp
または Glu) ; 残基 13 の Xaa = (Leu または Val) ; 残
基 16 の Xaa = (Gln、Leu、Asp、His、または Asn) ; 残
基 17 の Xaa = (Asp、Arg、または Asn) ; 残基 19 の Xaa
= (Ile または Val) ; 残基 20 の Xaa = (Ile または Val)
; 残基 23 の Xaa = (Glu、Gln、Leu、Lys、Pro、また
は Arg) ; 残基 25 の Xaa = (Tyr または Phe) ; 残基 26
の Xaa = (Ala、Ser、Asp、Met、His、Leu、または Gln)
; 残基 28 の Xaa = (Tyr、Asn、または Phe) ; 残基 31
の Xaa = (Glu、His、Tyr、Asp、または Gln) ; 残基 33
の Xaa = (Glu、Lys、Asp、または Gln) ; 残基 35 の Xaa
= (Ala、Ser、または Pro) ; 残基 36 の Xaa = (Phe、Leu、
または Tyr) ; 残基 38 の Xaa = (Leu または Val) ; 残
基 39 の Xaa = (Asn、Asp、Ala、または Thr) ; 残基 40
の Xaa = (Ser、Asp、Glu、Leu、または Ala) ; 残基 41
の Xaa = (Tyr、Cys、His、Ser、または Ile) ; 残基 42
の Xaa = (Met、Phe、Gly、または Leu) ; 残基 44 の Xaa
= (Ala、Ser、または Gly) ; 残基 45 の Xaa = (Thr、Leu、
または Ser) ; 残基 49 の Xaa = (Ile または Val) ; 残
基 50 の Xaa = (Val または Leu) ; 残基 51 の Xaa = (Gln
または Arg) ; 残基 52 の Xaa = (Thr、Ala、または Ser)
; 残基 54 の Xaa = (Val または Met) ; 残基 55 の Xaa
= (His または Asn) ; 残基 56 の Xaa = (Phe、Leu、Asn、
Ser、Ala、または Val) ; 残基 57 の Xaa = (Ile、Met、
Asn、Ala、または Val) ; 残基 58 の Xaa = (Asn、Ly

s、Ala、または Glu) ; 残基59. のXaa=(Pro または Ser) ; 残基60. のXaa=(Glu、Asp、または Gly) ; 残基61. のXaa=(Thr、Ala、Val、Lys、Asp、Tyr、Ser、または Ala) ; 残基62. のXaa=(Val、Ala、または Ile) ; 残基63. のXaa=(Pro または Asp) ; 残基64. のXaa=(Lys または Leu) ; 残基65. のXaa=(Pro または Ala) ; 残基68. のXaa=(Ala または Val) ; 残基70. のXaa=(Thr または Ala) ; 残基71. のXaa=(Gln、Lys、Arg、または Glu) ; 残基72. のXaa=(Leu、Met、または Val) ; 残基73. のXaa=(Asn、Ser、または Asp) ; 残基74. のXaa=(Ala、Pro、または Ser) ; 残基75. のXaa=(Ile、Thr、または Val) ; 残基76. のXaa=(Ser または Ala) ; 残基77. のXaa=(Val または Met) ; 残基79. のXaa=(Tyr または Phe) ; 残基80. のXaa=(Phe、Tyr、または Leu) ;

残基81. のXaa=(Asp または Asn) ; 残基82. のXaa=(Asp、Glu、Asn、または Ser) ; 残基83. のXaa=(Ser、Gln、Asn、または Tyr) ; 残基84. のXaa=(Ser、Asn、Asp、または Glu) ; 残基85. のXaa=(Asn、Thr、または Lys) ; 残基87. のXaa=(Ile または Val) ; 残基89. のXaa=(Lys または Arg) ; 残基90. のXaa=(Lys、Asn、Gln、または His) ; 残基91. のXaa=(Tyr または His) ; 残基92. のXaa=(Arg、Gln、または Glu) ; 残基93. のXaa=(Asn、Glu、または Asp) ; 残基95. のXaa=(Val、Thr、または Ala) ; 残基97. のXaa=(Arg、Lys、Val、Asp、または Glu) ; 残基98. のXaa=(Ala、Gly、または Glu) ; 残基102. のXaa=(His または Arg) .

同様に、一般配列5 (配列表番号30) 一般配列6 (配列表番号31) 。これらの一般配列は表IIで同定されるこのモルフォゲンファミリーの各種の好ましい

一員の間で共有する相同性を含む。一般配列5と6は、特定の、ヒトOP-1 (hOP-1、配列表番号5、及び16-17)、マウスOP-1 (mOP-1、配列表番号6、及び18-19)、ヒト及びマウスOP-2 (配列表番号7、8、及び20-22)、CBMP2A (配列表番号9)、CBMP2B (配列表番号10)、DPP (猩々蠅より、配列表番号11)、Vgl (爪蛙、配列表番号12)、Vgr-1 (マウスから、配列表番号13)、GDF-1 (マウスから、配列表番号14)、ヒトBMP3 (配列表番号26、) ヒトBMP5 (配列表番号27)、ヒトBMP6 (配列表番号28) 及び60A (猩々蠅から、配列表番号24-25) の複合のアミノ酸配列である。一般配列はC末ドメインに6と7個のシステイン骨格 (それぞれ一般配列5と6) にとって特定されるアミノ酸の同一性ととも、その配列のなかで変化させうる位置に別の残基を含む。これらの一般配列3と一般配列4の時と同じように、一般配列5と6の41 (一般配列5) と46 (一般配列6) の位置に、それぞれさらにシステインを許容し、分子間若しくは分子内ジスルフィド結合を形成できる適当なシステイン骨格を供

給し、そして蛋白質の3次構造に影響する一定の重要なアミノ酸を含む。

一般配列5

```

L e u   X a a   X a a   X a a   P h e
                        5
X a a   X a a   X a a   G l y   T r p   X a a   X a a   T r p   X a a
                        10
X a a   X a a   P r o   X a a   X a a   X a a   X a a   A l a
15                                20
X a a   T y r   C y s   X a a   G l y   X a a   C y s   X a a
                        25                                30
X a a   P r o   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a
                        35
X a a   X a a   X a a   A s n   H i s   A l a   X a a   X a a
                        40                                45
X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a
                        50
X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a   C y s
55                                60
C y s   X a a   P r o   X a a   X a a   X a a   X a a   X a a
70                                75
X a a   X a a   X a a   X a a   V a l   X a a   L e u   X a a
                        80
X a a   X a a   X a a   X a a   M e t   X a a   V a l   X a a
85                                90
X a a   C y s   X a a   C y s   X a a
                        95

```

ここで各 X a a は以下のように特定された一以上のアミノ酸からなる群から独立的に選択される: " R e s " は " 残基 " を意味する。

: 残基2. のX a a = (T y r または L y s) ; 残基3. のX a a = (V a l または I l e) ; 残基4. のX a a = (S e r 、 A s p 、または G l u) ; 残基6. のX a a = (A r g 、 G l n 、 S e r 、 L y s 、またはA l a) ;

残基7. のXaa=(Asp、Glu、または Lys) ; 残基8. のXaa=(Leu、Val、または Ile) ; 残基11. のXaa=(Gln、Leu、Asp、His、Asn、または Ser) ; 残基12. のXaa=(Asp、Arg、Asn、または Glu) ; 残基14. のXaa=(Ile または Val) ; 残基15. のXaa=(Ile または Val) ; 残基16. のXaa=(Ala または Ser) ; 残基18. のXaa=(Glu、Gln、Leu、Lys、Pro、または Arg) ; 残基19. のXaa=(Gly または Ser) ; 残基20. のXaa=(Tyr または Phe) ; 残基21. のXaa=(Ala、Ser、Asp、Met、His、Gln、Leu、またはGly) ; 残基23. のXaa=(Tyr、Asn、または Phe) ; 残基26. のXaa=(Glu、His、Tyr、Asp、Gln、または Ser) ; 残基28. のXaa=(Glu、Lys、Asp、Gln、または Ala) ; 残基30. のXaa=(Ala、Ser、Pro、Gln、または Asn) ; 残基31. のXaa=(Phe、Leu、または Tyr) ; 残基33. のXaa=(Leu、Val、または Met) ; 残基34. のXaa=(Asn、Asp、Ala、Thr、または Pro) ; 残基35. のXaa=(Ser、Asp、Glu、Leu、Ala、または Lys) ; 残基36. のXaa=(Tyr、Cys、His、Ser、または Ile) ; 残基37. のXaa=(Met、Phe、Gly、または Leu) ; 残基38. のXaa=(Asn、Ser、または Lys) ; 残基39. のXaa=(Ala、Ser、Gly、または Pro) ; 残基40. のXaa=(Thr、Leu、または Ser) ; 残基44. のXaa=(Ile、Val、または Thr) ; 残基45. のXaa=(Val、Leu、または Ile) ; 残基46. のXaa=(Gln または Arg) ; 残基47. のXaa=(Thr、Ala、または Ser) ; 残基48. のXaa=(Leu または Ile) ; 残基49.

のXaa=(Val または Met) ; 残基50. のXaa=(His、Asn、または Arg) ; 残基51. のXaa=(Phe、Leu、Asn、Ser、Ala、または Val) ; 残基52. のXaa=(Ile、Met、As

n、Ala、Val、または Leu) ; 残基53. のXaa=(Asn、Lys、Ala、Glu、Gly、または Phe) ; 残基54. のXaa=(Pro、Ser、または Val) ; 残基55. のXaa=(Glu、Asp、Asn、Gly、Val、または Lys) ; 残基56. のXaa=(Thr、Ala、Val、Lys、Asp、Tyr、Ser、Ala、Pro、または His) ; 残基57. のXaa=(Val、Ala、または Ile) ; 残基58. のXaa=(Pro または Asp) ; 残基59. のXaa=(Lys、Leu、または Glu) ; 残基60. のXaa=(Pro またはAla) ; 残基63. のXaa=(Ala または Val) ; 残基65. のXaa=(Thr、Ala、または Glu) ; 残基66. のXaa=(Gln、Lys、Arg、または Glu) ; 残基67. のXaa=(Leu、Met、または Val) ; 残基68. のXaa=(Asn、Ser、Asp、または Gly) ; 残基69. のXaa=(Ala、Pro、または Ser) ; 残基70. のXaa=(Ile、Thr、Val、または Leu) ; 残基71. のXaa=(Ser、Ala、または Pro) ; 残基72. のXaa=(Val、Met、または Ile) ; 残基74. のXaa=(Tyr または Phe) ; 残基75. のXaa=(Phe、Tyr、Leu、または His) ; 残基76. のXaa=(Asp、Asn、または Leu) ; 残基77. のXaa=(Asp、Glu、Asn、または Ser) ; 残基78. のXaa=(Ser、Gln、Asn、Tyr、または Asp) ; 残基79. のXaa=(Ser、Asn、Asp、Glu、または Lys) ; 残基80. のXaa=(Asn、Thr、またはLys) ; 残基82. のXaa=(Ile、Val、または Asn) ; 残基84. のXaa=(Lys または Arg) ; 残基85. のXaa=(Lys、Asn、Gln、His、または Val) ; 残基86. のXaa=(Tyrまたは His) ; 残基87. のXaa=(Arg、Gln、Glu、または

Pro) ; 残基88. のXaa=(Asn、Glu、または Asp) ; 残基90. のXaa=(Val、Thr、Alaまたは Ile) ; 残基92. のXaa=(Arg、Lys、Val、Asp、または Glu) ; 残基93. のX

aa = (Ala, Gly, Glu, または Ser) ; 残基95. のXaa = (Gly または Ala) ; 残基97. のXaa = (His または Arg)

一般配列6

Cys	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa
1				5				
Phe	Xaa	Xaa	Xaa	Gly	Trp	Xaa	Xaa	Trp
10					15			
Xaa	Xaa	Xaa	Pro	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Ala
	20					25		
Xaa	Tyr	Cys	Xaa	Gly	Xaa	Cys	Xaa	
		30					35	
Xaa	Pro	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa		
				40				
Xaa	Xaa	Xaa	Asn	His	Ala	Xaa	Xaa	
		45					50	
Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	
				55				
Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Cys	
	60					65		
Cys	Xaa	Pro	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	
			70					
Xaa	Xaa	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa		
75					80			
	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Val	Xaa	Leu	Xaa
				85				
	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Met	Xaa	Val	Xaa
90						95		
	Xaa	Cys	Xaa	Cys	Xaa			
			100					

ここで各 Xaa は以下のように特定された一以上のアミノ酸からなる群から

独立的に選択される: "Res" は"残基"を意味する。

: 残基2. のXaa=(Lys、, Arg、Ala、または Gln) ; 残基3
 . のXaa=(Lys、Arg、または Met) ; 残基4. のXaa=(His、Arg、または Gln) ; 残基5. のXaa=(Glu、Ser、His、Gly、Arg、Pro、Thr、または Tyr) ; 残基7. のXaa=(Tyr または Lys) ; 残基8. のXaa=(Val または Ile) ; 残基9. のXaa= Ser、Asp、または Glu) ; 残基11. のXaa=(Arg、Gln、Ser、Lys、または Ala) ; 残基12. のXaa=(Asp、Glu、または Lys) ; 残基13. のXaa=(Leu、Val、または Ile) ; 残基16. のXaa=(Gln、Leu、Asp、His、Asn、または Ser) ; 残基17のXaa=(Asp、Arg、Asn または Glu.) ; 残基19. のXaa=(Ile または Val) ; 残基20. のXaa=(Ile または Val) ; 残基21. のXaa=(Ala または Ser) ; 残基23. のXaa=(Glu、Gln、Leu、Lys、Pro、または Arg) ; 残基24. のXaa=(Gly または Ser) ; 残基25. のXaa=(Tyr または Phe) ; 残基26. のXaa=(Ala、Ser、Asp、Met、His、Gln、Leu、または Gly) ; 残基28. のXaa=(Tyr、Asn、または Phe) ; 残基31. のXaa=(Glu、His、Tyr、Asp、Gln、または Ala) ; 残基33. のXaa=(Glu、Lys、Asp、Gln、またはAla) ; 残基35. のXaa=(Ala、Ser、Pro、Gln、または Asn) ; 残基36. の

Xaa=(Phe、Leu、または Tyr) ; 残基38. のXaa=(Leu、Val、または Met) ; 残基39. のXaa=(Asn、Asp、Ala、Thr、または Pro) ; 残基40. のXaa=(Ser、Asp、Glu、Leu、Ala、または Lys) ; 残基41. のXaa=(Tyr、Cys、His、Ser、または Ile) ; 残基42. のXaa=(Met、Phe、Gly、または Leu) ; 残基43. のXaa=(Asn、Ser、または

Lys) ; 残基44. のXaa=(Ala、Ser、Gly、または Pro)
; 残基45. のXaa=(Thr、Leu、または Ser) ; 残基49. のX
aa=(Ile、Val、または Thr) ; 残基50. のXaa=(Val、
Leu、または Ile) ; 残基51. のXaa=(Gln または Arg)
; 残基52. のXaa=(Thr、Ala、または Ser) ; 残基53. のX
aa=(Leu または Ile) ; 残基54. のXaa=(Val またはM
et) ; 残基55. のXaa=(His、Asn、または Arg) ; 残基56
. のXaa=(Phe、Leu、Asn、Ser、Ala、または Val) ;
残基57. のXaa=(Ile、Met、Asn、Ala、Val、または L
eu) ; 残基58. のXaa=(Asn、Lys、Ala、Glu、Gly、ま
たは Phe) ; 残基59. のXaa=(Pro、Ser、または Val) ;
残基60. のXaa=(Glu、Asp、Gly、Val、または Lys) ;
残基61. のXaa=(Thr、Ala、Val、Lys、Asp、Tyr、S
er、Ala、Pro、あるいは His) ; 残基62. のXaa=(Val、
Ala、または Ile) ; 残基63. のXaa=(Pro または Asp)
; 残基64. のXaa=(Lys、Leu、または Glu) ; 残基65. のX
aa=(Pro または Ala) ; 残基68. のXaa=(Ala または
Val) ; 残基70. のXaa=(Thr、Ala、または Glu) ; 残基7
1. のXaa=(Gln、Lys、Arg、または Glu) ; 残基72. のX
aa=(Leu、Met、または Val) ; 残基73. のXaa=(Asn、
Ser、Asp、または Gly) ; 残基74. のXaa=(Ala、Pro、
または Ser) ; 残基75. のXaa=(Ile、Thr、Val、また

は Leu) ; 残基76. のXaa=(Ser、Ala、または Pro) ; 残
基77. のXaa=(Val、Met、または Ile) ; 残基79. のXaa
=(Tyr または Phe) ; 残基80. のXaa=(Phe、Tyr、Le
u、または His) ; 残基81. のXaa=(Asp、Asn、または Le
u) ; 残基82. のXaa=(Asp、Glu、Asn、または Ser) ; 残
基83. のXaa=(Ser、Gln、Asn、Tyrまたは Asp) ; 残基

84. のXaa=(Ser、Asn、Asp、Glu または Lys) ; 残基85. のXaa=(Asn、Thr、または Lys) ; 残基87. のXaa=(Ile、Val、または Asn) ; 残基89. のXaa=(Lys または Arg) ; 残基90. のXaa=(Lys、Asn、Gln、His、またはVal) ; 残基91. のXaa=(Tyr または His) ; 残基92. のXaa=(Arg、Gln、Glu、または Pro) ; 残基93. のXaa=(Asn、Glu、または Asp) ; 残基95. のXaa=(Val、Thr、Ala、または Ile) ; 残基97. のXaa=(Arg、Lys、Val、Asp、または Glu) ; 残基98. のXaa=(Ala、Gly、Glu、または Ser) ; 残基100. のXaa=(Gly またはAla) ; 残基102. のXaa=(His または Arg)

本発明のモルフォゲンとして特に有用な配列としては、C末ドメイン、例えば、Vgl、Vgr-1、DPP、OP-1、OP-2、CBMP-2A、CBMP-2B、GDF-1 (表II及び配列表番号5-14参照) のC末96-102のアミノ酸残基や60A、BMP3、BMP5、BMP6 (配列表番号24-28参照) のC末ドメインからなる蛋白質等を含み、これらの全ては少なくとも保存された6か7個のシステイン骨格を有する。さらに米国特許5、011、691号に開示されているCOP-1、3-5、7、16のように一般配列からデザインされた生物学的に合成された構築物もまた有用である。その他の配列はインヒビン/アクチビン蛋白質 (例えば米国特許4、968、590号および5、011、691号参照) を含む。

従って、好ましい他の有用な配列は、上記一般的配列のいずれかと少なくとも

70%のアミノ酸配列相同性、又は類似性、そして好ましくは、80%の相同性、又は類似性を共有するものである。これらには、対立形質の、種の及び他の変種 (例えば” ミューテイン”、又は” 変異蛋白”)、天然に存在するか、生合成されるかを問わずこの形態形成蛋白質ファミリーの稀少なものをも含むことが考えられる。ここで用いられているように、” アミノ酸配列相同性” とは、アミノ酸配列類似性という意味で理解され、相同性の配列は、同一、又は類似のアミノ

酸を共有している。ここで類似のアミノ酸とは、Dayoffら、Atlas of Protein Sequence and Structure; vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-362 (M. O. Dayoff, 編、Nat'l BioMed. Research Fdn., Washington D. C. 1978) に特定されているように保存されたアミノ酸である。このように、対照配列に70%のアミノ酸相同性を共有する候補配列は、対照配列と候補配列を一緒に並べてみて、候補配列の70%のアミノ酸が、対照配列に相当するアミノ酸と同一、又は、それらに保存されたアミノ酸変化を構成することが必要である。”アミノ酸配列の同一性”とは、2つの並べられた配列間で、同一のアミノ酸であることが必要であると理解される。このように対照配列と60%のアミノ酸同一性を共有する候補配列は、候補配列を対照配列と一緒に並べてみて、候補配列の60%のアミノ酸が、対照配列の相当するアミノ酸と同一であることが要求される。

ここで用いられるように、全ての相同性と同一性はOP-1を対照配列として計算される。また、ここで用いられるように、配列はNeedlemanら(1970) J. Mol. Biol. 48: 443-453の方法を用いて、相同性及び同一性計算用に整列させ、同一性はAlignプログラム(DNAstar, Inc.)により計算される。全ての場合について、並べられているままで、候補配列の内部欠落やアミノ酸の挿入は相同性/同一性の計算時には無視される。

現在のところ、本発明のモルフォゲンとして有用なもっとも好ましい蛋白質のは、hOP1の保存された6個のシステイン骨格を特定するアミノ酸配列(例え

ば配列表番号5の残基43-139)と60%以上、好ましくは65%以上の同一性を有するものである。これらのもっとも好ましい配列は握々蠅60A蛋白質も含み、OP-1、OP-2の対立形質や種の変種を含む。従って、本発明の他の好ましい特徴では、有用なモルフォゲンは、7個のシステイン骨格を特定し、いろいろな同定されたOP-1やOP-2の種間で相同性を持っている”OPX”(配列表番号29)とここでは云われている一般的アミノ酸配列を有する各種

のポリペプチド鎖からなる活性蛋白質も含む。そこで説明されているように、与えられた位置の各X a aは独立的に、マウス、若しくはヒトのOP 1、若しくはOP 2（配列表番号5-8、及び／若しくは配列表番号16-23参照）のC末の配列の相当する位置で生じうる残基から選択される。

本発明のさらに好ましい点は、有用なモルフォゲンがOP 1、若しくはOP 2の保存された7個のシステインドメインを特定するC末の配列をコードするDNA、若しくはRNA配列と、例えば、それぞれ、配列表番号16と20のヌクレオチド1036-134とヌクレオチド1390-1695で特定されるが、厳密なハイブリダイゼーションの条件下でハイブリダイズする核酸によってコードされるアミノ酸配列からなる二量体蛋白質を含む。ここで用いられるように、厳密なハイブリダイゼーションの条件とは37℃で一晩、40%ホルムアルデヒド中で、5xSSPE、5xDenhardt溶液、0.1%SDSでハイブリダイゼーションを行い50℃で0.1xSSPE、0.1%SDSで洗浄する条件である。

本発明の方法、組成物、器具に有用なモルフォゲンは上述の、天然に存在するものから単離されたものでも、組換えDNAや他の合成技術によるものでも、ポリペプチド鎖のいずれからの蛋白質を含み、また、各種の短縮および融合構築物だけでなく、それらの蛋白質の対立形質や種の変種も含む。欠失また付加変異体も、活性を有するものと考えられるが、これらには保存れたC-末システイン骨格を変更するようなものも、その変更が、折り畳まれた構造におけるこれらシステインの関係を機能的に破壊しない限り含まれる。従って、そのような活性型は、本発明で開示されている特定の述べられている構築物と同等と考えられてる。

蛋白質は種々のグリコシル化パターン、種々のN末端を有する型や、アミノ酸配列相同性の領域を有する一群の関連蛋白質や、天然の、若しくは宿主細胞の組み換えDNAの発現により生産される生合成蛋白質の活性な短縮型または変異型も含むことができる。

形態形成蛋白質は前核若しくは真核宿主細胞で、そのままの若しくは切断されたcDNA、または合成DNAから発現され、精製され、分解され、折り畳まれ

、2 量化し形態形成活性を有する組成物を形成する。現在好ましい宿主細胞は大腸菌、あるいは CHO、COS、若しくは BSC 細胞のような哺乳動物細胞が含まれる。本発明の方法、組成物、器具に有用なモルフォゲンの詳細な説明は共に係属中の 1991 年 8 月 30 日に出願した米国出願番号 752、764 及び 1991 年 3 月 11 日出願の米国出願番号 667、724 に開示され、この開示は参照されるこのによりここに組み込まれる。

このように、本開示の観点より、熟練した遺伝子工学者は適当なアミノ酸配列をコードする各種の異なる種類の cDNA、若しくはゲノムライブラリーから遺伝子を単離し、オリゴヌクレオチドから DNA を構築し、前核、若しくは真核細胞の両者を含む各種の宿主細胞でそれらを発現させ、歯周組織の形態形成を促進し、及び／若しくは歯周組織損傷を抑制することのできる活性蛋白質を大量生産することができる。

本発明の他の特長や利点は以下の好ましい実施例の開示や請求項から明らかになるであろう。

図面の簡単な説明

本発明の前述及び他の目的及び特長は、本発明自身と同様、付随する図面と共に読むことにより、以下の説明から、より完全に理解できる：

図 1 は歯槽の健全な歯の概要の図であり；

図 2 (A と B) は外科的に調製された犬の歯槽でのモルフォゲン (2A)、若しくは担体単独 (2B) の歯周組織再生に対する効果を示す光学顕微鏡写真である

図 3 (A と B) は外科的に曝された歯髄実験における象牙質の再生に対するモルフォゲン (3A) あるいは担体単独の効果を示す光学顕微鏡写真である。

詳細な説明

本出願で開示されているモルフォゲンは損失、若しくは損傷した歯周靱帯、及び／若しくはセメント質の再生も含む、歯周組織形成を促進することができることが判明した。本発明は病気、若しくは機械的損傷による歯周組織損失を抑制、及び／若しくは修復するだけでなく、歯移植形成に用いることができる。本発明

は、本発明で特定されるように、ここで開示される方法に従って、モルフォゲン、あるいはモルフォゲン促進剤を使用して実施することができる。

実施例、限定する実施例ではなく、(1) 本発明の方法でここで開示するモルフォゲンの適切性を示し、(2) 候補モルフォゲンの効能を試験するアッセイを提供するものである実験的、非限定的実施例と共に、歯の解剖学的構造及び有用なモルフォゲンについて、それらの製造や製剤も含み以下に記述する。

1. 歯の解剖学的構造

歯槽の歯の垂直切片は図 1 にその概要が示されている。歯の歯冠 6 はエナメル 8 と象牙質 22 から構成される。歯髄腔 12 は歯冠 6 の内側と歯根 10 の中央に見られる；それは骨領域 14、16、18 の方に下に拡がっており、根部歯髄 10 にある微小開口部、歯根尖孔 20、により開いている。歯髄腔 12 は歯髄、歯根尖孔 20 を通して入っている血管や神経により豊富に供給される軟結合組織である歯髄を含有する。髄質のいくつかの細胞は、即ち、象牙は芽細胞、象牙質前駆体 22、は歯髄腔 12 の壁面に層となって並んでいる。歯組織の発達の段階で象牙芽細胞は柱状であるが、象牙質が完全に形成されると、それらは扁平になり、骨芽細胞に類似する。

成熟歯の固体部分は象牙質 22、エナメル質 8、及びセメント質 24 の薄層からなり、それは歯根 25 の表面に配列している。エナメル質 8 は歯組織の発達段階でエナメル芽細胞から形成される。完全に発達した歯では、歯の主要な固形部

は象牙質 22 からなり、それはコラーゲン繊維の強力な網でおおわれたヒドロキシアパタイトの結晶で作られている。象牙質は緻密な均一な物質、基質（細胞間質）でおおわれ、象牙細管と呼ばれる多数の波状の分岐した細管がある。象牙細管は相互に平行で、その内部終末で歯髄腔に開口している。象牙質の基質は半透明で象牙質の無機質の殆どからなる。それは、多数の細かい繊維からなり、髄質腔の繊維とつながっている。弱酸で歯をしたすことにより有機物質を除去すると、残存する有機質を管の方向を横切って歯髄腔 12 と平行に走る層板に分けることができる。

セメント質 24 は歯根をおおう薄い石灰化層として配列している。それは、エ

ナメル質が終了するところから、通常非常に厚い各根尖まで伸びている。セメント質は構造及び化学組成で、それが僅かながら真の骨に特徴的な鞘や細管を有しており、骨に類似している；セメント質のより厚い部分には、骨に特異な層板構造やハーバース管が見られる。老化の結果セメント質は厚さが増加し、歯髄腔が部分的に構造的に象牙質と骨の間のような硬い物質で満たされるようになる。それは、歯髄が小さくなり、若しくは消失さえするゆっくりした転化により形成されるようである。

歯周靱帯、若しくは歯根膜26はセメント質24と骨14、16、18との間のクッションを形成する歯周組織層である；顎骨の槽内にそれをかけることによって、歯の位置を維持している。歯周靱帯は歯周繊維芽細胞から形成される高度の組織化された組織である。それは、顎骨より直接セメント質に通っているコラーゲン繊維を組織化する。

II. 有用なモルフォゲン

ここで定義されるように、器官特異的な新しい組織の形成を促進する細胞若しくは分子レベルの進展的なカスケードを誘導することができ、そして、少なくともC末の6個のシステイン骨格からなり、若しくは機能的に同等なものであるならば、蛋白質は形態形成性である。特に、モルフォゲンは一般に、形態形成的に許容しうる環境で以下の全ての生物学的機能を果たしうる：前駆体細胞の増殖を促進する；分化細胞の増殖を促進する；分化細胞の成長と維持を支援する。本発

明の方法に有用なモルフォゲンがどうして最初に同定できるかの詳細は、どのようにして、それらの形態形成活性を起こし、使用し、試験するかの説明だけでなく国際出願（US92/01968, WO92/15323）に開示されており、参考文献として引用している。この開示は引用することによりこの組み込まれる。

そこで開示されるように、モルフォゲンは天然に発生しうる資源から、精製することができるし、そこで開示されている遺伝子配列を利用して、前核、若しくは真核宿主細胞から組換え技術で生産することができる。また別の方法では、新規なモルフォゲン配列は、そこで開示されている方法により同定しうる。

特に有用な蛋白質は表IIに開示されている天然物質由来の配列からなるものも含む。他の有用な配列は米国特許5、011、691号で開示されているような生物学的合成構築物も含む、その開示は参考文献として引用されている。(例えば、COP-1、COP-3、COP-4、COP-5、COP-7、及びCOP-16)

従って、本発明の方法及び組成物に有用なモルフォゲンは”相同性”を上述のように定義されているように、上述の配列のいずれとも70%、好ましくは80%の相同性(類似性)を有するアミノ酸配列を有する形態形成活性を有する蛋白質により説明することができる。

本発明の方法に有用なモルフォゲンは、また、本発明で開示されている6個の一般配列(一般配列1、2、3、4、5、及び6)により説明することができる。

一般配列1及び2は、また、それらのN末が配列

C y s X a a X a a X a a X a a (配列表番号15)

を含むことができる。

表II、以下に示されるが、モルフォゲンと同定された、ヒトOP-1、(hOP-1、配列表番号5及び16-17)、マウスOP-1(mOP-1、配列表番号6及び18-19)、ヒト及びマウスOP-2(配列表番号7、8、及び20-23)、CBMP2A(配列表番号9)、CBMP2B(配列表番号10)、BMP3(配列表番号26)、DPP(猩々蠅より、配列表番号11)、Vg

l (爪蛙より、配列表番号12)、Vgr-1(マウスより、配列表番号13)、GDF-1(マウスより、配列表番号14、32、及び33)、60A蛋白質(猩々蠅より、配列表番号24、及び25)、BMP5(配列表番号27)、BMP6(配列表番号28)を含む、天然の蛋白質の活性領域のアミノ酸配列を比較する。配列を本質的にNeedlemanらの方法((1970) J. Mol. Biol.、48:443-453)に従って並べ、整列プログラム(DNAstar, Inc.)により計算した。表では、3個のドットは、その位置にhO

P-1のアミノ酸と同じアミノ酸であることを示す。3個のダッシュはその位置にアミノ酸が存在しないが相同性を示す目的で示されている。例えば、CBMP 2 AとCBMP 2 Bの残基60のアミノ酸は欠失している。もちろん、この領域の両者のアミノ酸配列は、残基58、59ではA s n、S e rであるところを、CBMP 2 AではL y sとI l eにCBMP 2 BではS e rとI l eからなる。

表 II

hOP -1	Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val
mOP-1
hOP -2	... Arg Arg
mOP-2	... Arg Arg
DPP	... Arg Arg ... Ser
Vgl Lys Arg His
Vgr-1 Gly
CBMP-2A Arg ... Pro
CBMP-2B	... Arg Arg ... Ser
BMP3	... Ala Arg Arg Tyr ... Lys ...
GDF-1	... Arg Ala Arg Arg
60A	... Gln Met Glu Thr
BMP5
BMP6	... Arg

hOP -1	Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp
mOP-1
hOP -2 Gln Leu ...
mOP-2	Ser Leu ...
DPP	Asp ... Ser ... Val Asp ...
Vgl	Glu ... Lys ... Val Asn
Vgr-1 Gln ... Val
CBMP-2A	Asp ... Ser ... Val Asn ...
CBMP-2B	Asp ... Ser ... Val Asn ...
BMP3	Asp ... Ala ... Ile Ser Glu
GDF-1 Glu Val His Arg
60A	Asp ... Lys His ...
BMP5
BMP6 Gln
	10 15

hDP-1	Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala
mOP-1
hOP-2	... Val Gln Ser
mOP-2	... Val Gln Ser
DPP Val Leu Asp
Vgl	... Val Gln Met
Vgr-1 Lys
CBMP-2A Val Pro His
CBMP-2B Val Pro Gln
BMP3 Ser ... Lys Ser Phe Asp

GDF-1	... Val Arg ... Phe Leu
60A Gly
BMP5
BMP6 Lys
	20 25
hOP -1	Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala
mOP-1
hOP -2 Ser
mOP-2
DPP His ... Lys ... Pro
Vgl	... Asn Tyr Pro
Vgr-1	... Asn Asp Ser
CBMP-2A	... Phe His ... Glu ... Pro
CBMP-2B	... Phe His ... Asp ... Pro
BMP3 Ser ... Ala ... Gln
GDF-1	... Asn Gln ... Gln
60A	... Phe Ser Asn
BMP5	... Phe Asp Ser
BMP6	... Asn Asp Ser
	30 35
hOP -1	Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn Ala
mOP-1
hOP -2 Asp ... Cys
mOP-2 Asp ... Cys
DPP Ala Asp His Phe ... Ser
Vgl	Tyr Thr Glu Ile Leu ... Gly

Vgr-1 Ala His
 CBMP-2A Ala Asp His Leu ... Ser
 CBMP-2B Ala Asp His Leu ... Ser
 GDF-1 Leu ... Val Ala Leu Ser Gly Ser*...
 BMP3 Met Pro Lys Ser Leu Lys Pro
 60A Ala His

BMP5 Ala His Met
 BMP6 Ala His Met

40

hOP -1 Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu
 mOP-1
 hOP -2 Leu ... Ser ...
 mOP-2 Leu ... Ser ...
 DPP Val
 Vgl Ser Leu
 Vgr-1
 CBMP-2A
 CBMP-2B
 BMP3 Ser Thr Ile ... Ser Ile
 GDF-1 Leu Val Leu Arg Ala ...
 60A
 BMP5
 BMP6

45

50

hOP -1 Val His Phe Ile Asn Pro Glu Thr Val

mOP-1 Asp
hOP -2	... His Leu Met Lys ... Asn Ala ...
mOP-2	... His Leu Met Lys ... Asp Val ...
DPP	... Asn Asn Asn Gly Lys ...
Vgl Ser ... Glu Asp Ile
Vgr-1 Val Met Tyr ...
CBMP-2A	... Asn Ser Val ... Ser ... Lys Ile
CBMP-2B	... Asn Ser Val ... Ser ... Ser Ile
BMP3	... Arg Ala*Gly Val Val Pro Gly Ile
GDF-1	Met ... Ala Ala Ala ... Gly Ala Ala
60A Leu Leu Glu ... Lys Lys ...
BMP5 Leu Met Phe ... Asp His ...
BMP6 Leu Met Tyr ...

55

60

hOP -1	Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln
mOP-1
hOP -2 Ala Lys
mOP-2 Ala Lys
DPP Ala Val
Vgl	... Leu Val Lys
Vgr-1
CBMP-2A Ala Val Glu
CBMP-2B Ala Val Glu
BMP3	... Glu Val ... Glu Lys
GDF-1	Asp Leu Val ... Ala Arg
60A
BMP5 Lys

BMP6	Lys
				65				70	
hOP -1	Leu	Asn	Ala	Ile	Ser	Val	Leu	Tyr	Phe
mOP-1
hOP -2	...	Ser	...	Thr	Tyr
mOP-1	...	Ser	...	Thr	Tyr
Vgl	Met	Ser	Pro	Met	...	Phe	Tyr
Vgr-1	Val
DPP	...	Asp	Ser	Val	Ala	Met	Leu
CBMP-2A	...	Ser	Met	Leu
CBMP-2B	...	Ser	Met	Leu
BMP3	Met	Ser	Ser	Leu	...	Ile	...	Phe	Tyr
GDF-1	...	Ser	Pro	Phe	...
60A	...	Gly	...	Leu	Pro	His
BMP5
BMP6
				75				80	
hOP -1	Asp	Asp	Ser	Ser	Asn	Val	Ile	Leu	Lys
mOP-1
hOP -2	...	Ser	...	Asn	Arg
mOP-2	...	Ser	...	Asn	Arg
DPP	Asn	...	Gln	...	Thr	...	Val
Vgl	...	Asn	Asn	Asp	Val	...	Arg
Vgr-1	Asn
CBMP-2A	...	Glu	Asn	Glu	Lys	...	Val
CBMP-2B	...	Glu	Tyr	Asp	Lys	...	Val
BMP3	...	Glu	Asn	Lys	Val

GDF-1	... Asn ... Asp ... Val ... Arg
60A	Leu Asn Asp Glu ... Asn ...
BMP5
BMP6	... Asn

85

hOP -1	Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg
mOP-1
hOP -2	... His ... Lys
mOP-2	... His ... Lys
DPP	Asn ... Gln Glu ... Thr ... Val
Vgl	His ... Glu ... Ala ... Asp
Vgr-1
CBMP-2A	Asn ... Gln Asp ... Glu
CBMP-2B	Asn ... Gln Asp ... Glu
BMP3	Val ... Pro ... Thr ... Glu
GDF-1	Gln ... Glu Asp ... Asp
60A	... Ile ... Lys
BMP5
BMP6	... Trp ...

90

95

hOP -1	Ala Cys Gly Cys His
mOP-1
hOP -2
mOP-2
DPP	Gly ... Arg
Vgl	Glu ... Arg

Vgr-1
CBMP-2A	Gly Arg
CBMP-2B	Gly Arg
BMP3	Ser ... Ala ... Arg
GDF-1	Glu Arg
60A	Ser
BMP5	Ser
BMP6

100

* BMP3の残基56と57の間にVal残基；

GDF-1の残基43と44の間にアミノ酸配列

Gly-Gly-Pro-Proがある。

前述のアミノ酸配列比較から明らかなように、形態形成活性を維持しながら、一般配列のなかで、重要なアミノ酸変化をさせることができる。例えば、表IIに示されているGDF-1蛋白質配列はそこで開示されているhOP1と僅か50%のアミノ酸の同一性しか有しないが、相同性若しくは類似性がDayoffら、Atlas of Protein Sequence and Structure vol. 5, supp. 3, pp. 345-362、(M. O. Dayoff, 編、国立生物医学研究財団、ワシントン D. C. 1979)に定義される配列のなかで、許容しうる保存されたアミノ酸変化も含み、GDF-1配列がhOP1配列と70%アミノ酸相同性若しくは類似性を有する。

現在のところ本発明のモルフォゲンとして、有用なもっとも好ましい蛋白質の配列はhOP1（例えば配列表番号5の残基43-139）の保存された6個のシステイン骨格を特定するアミノ酸配列と60%以上、好ましくは65%以上の同一性を有する配列である。これらのもっとも好ましい配列は猩々蠅60A蛋白質も含み、OP-1、OP-2の対立形質や種の変種を含む。従って、本発明の

他の好ましい点は、ここで“OPX”と呼ばれる一般アミノ酸配列を有するポリペプチド鎖を含有するモルフォゲンを含む。”OPX”は7個のシステイン骨格

を有し、種々の明らかにされたマウスおよびヒトのOP-1およびOP-2蛋白質間の同一性を有する。OPXは配列表番号29で示される。そこで表されている独立して与えられている位置の各Xaaは、マウス若しくはヒトのOP1やOP2（配列表番号5-8及び／そして配列表番号16-23）のC末配列から選択される。

別の選択では、内因性モルフォゲンレベルの産生促進をすることができる有効量の薬剤を以下に述べるいずれの経路でもよく投与できる。例えば、モルフォゲン産生、及び／または歯周組織細胞や、歯槽内の歯槽骨組織細胞からの分泌を促進することができる薬剤を哺乳類に、例えば直接モルフォゲン促進剤を歯根、及び／若しくは歯槽骨表面に投与して供給できる。また別の方法では、モルフォゲン産生促進剤は、歯周組織、歯組織、歯周骨組織より他の組織部位でのモルフォゲンの発現、及び／若しくは分泌を、発現したモルフォゲンを歯周組織へ標的化して、誘導することができる。投与された組織の内因性のモルフォゲンのレベルを変動させることができる薬剤を同定及び試験する方法が実施例3で一般的に開示されている。詳細は、1992年8月28日に出願した継続中のUSSN「代理人名簿番号CRP-O58CP」1991年8月30日に出願したUSSN752、859に開示されており、それらを参考文献に引用することによりここに組み込まれる。簡単にいうと、候補化合物は *in vitro* で化合物を試験組織、またはそれらの細胞と共に、化合物の産生、即ち、その組織の細胞により産生されるモルフォゲンの発現及びまたは分泌に影響を及ぼすのに十分な時間インキュベートすることにより、同定及び試験することができる。ここで適切な組織、組織の培養細胞とは、好ましくは、歯周線維芽細胞、セメント芽細胞、象牙芽細胞、あるいは骨芽細胞が含まれる。

III. 投与のための剤型及び方法

1. 治療薬に対する考察

モルフォゲンは、いずれかの適切な方法により、歯根、及び／または、歯槽表

面に供給することができる。好ましくは、モルフォゲン、あるいはモルフォゲン産生促進剤（集合的に治療薬という）を局所投与することにより、組織表面に直

接供給される。別の方法では、治療剤は例えば、局所注射により、組織へ供給される。現在のところでは、好ましくはないが、全身注射は、例えば、老人、若しくは、免疫機能の低下したヒト、若しくは慢性的に歯周組織の損失の恐れのあるヒトの歯周組織の維持のような、確実な投与のための生育可能な投与経路であることができる。経口及び非経口を含み、全身投与の考察の詳細な説明は、例えば、国際出願US92/07358 (WO93/04692) に開示され、上記に参考文献として引用することによりここに組み込まれる。

治療薬が直接歯槽に供給されるところで、治療薬は液体、ゲル、あるいは固体でもよく、生体適合性製剤の一部として、歯槽表面に直接供給することができる。さらに、治療薬は、投与した部位にモルフォゲンを維持することができる担体に散布したり、結合したりすることができる。有益な製剤は、粘性の組成物を含む。製剤の粘度をあげる生体内適合性の組成物は、グリセリン、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化ナフタレン等のようなものを含む。

製剤は、また、*in vivo* で放出制御された放出剤として作用する生体内吸収性担体素材を含むことができる。有用な担体としては、生体内適合性、好ましくは、コラーゲン、ラミニン、ヒアルロン酸、のような細胞外基質、ポリ乳酸、ポリ酪酸、ポリグリコール酸のような高分子材料からの生体内分解性の構成成分を含むことができる。担体は、また、脱灰した、グアニジン抽出した象牙質、歯周靱帯あるいはセメント基質のような非構成成分で実質的に消失した無細胞組織基質を含むことができる。そのような基質を調製するための詳細は、国際出願US92/01968 (WO93/15323) に開示されている。

治療薬が分散される他の有用な放出制御担体は、米国特許4、975、526号及び4、919、939号に開示されており、ここで参考文献として引用している。開示は引用することによりここに組み込まれる。

モルフォゲンが歯根表面に供給されるべきところでは、それは上記の如く放出

制御された組成物に成型することができ、以下に説明されるように、歯根表面に局所的に投与することができる。または、さらに、別の方法では、治療薬は、少

なくとも、歯根表面が置かれる液剤に分散し、液を、治療薬が歯の表面に吸着されるよう凍結乾燥することができる。

薬剤を歯周組織損失を抑制、及び／若しくは、移植歯の周囲の歯周組織を再生させるのに投与されるところで、薬剤は注射、局所投与により歯と歯肉の間の区域に供給することができる。

モルフォゲンが直接（例えば、局所に、注射により、例えば、歯周あるいは歯槽組織部位に）モルフォゲンは好ましくは、担体材料を含有する水溶液の一部を含む。溶液は患者に望ましいモルフォゲンの放出の他に、溶液がそうでなければ、患者の電解質や、体液量バランスに悪影響を与えないように生理的に許容し得る。モルフォゲンの水性溶媒はこのように正常な生理食塩水（0.85 NaCl, 0.15M）、pH 7-7.4 からなる。モルフォゲン含有水溶液は例えば蛋白質を、0.1%トリフルオロ酢酸（TFA）、若しくは0.1% HCl 中にアセトニトリルを含有する50%エタノールに溶解することによって調製することができる。そして、例えば、一容のその溶液を10容のリン酸生理食塩緩衝液に添加し、さらにヒト血清アルブミンを含むことができる。得られた溶液は好ましくはさらに攪拌する。望まれる場合は、投与されたモルフォゲンは適切な分子と結合して溶液中ではより溶解性をあげることができる。例えば、形態形生蛋白質のプロ型は生理溶液で溶解する種を含む。事実、内因性の蛋白質はこの形で輸送（例えば、分泌及び循環）されると考えられている。この可溶性の蛋白質はモルフォゲン分泌性哺乳動物細胞の培養液から得ることができる。別の方法では、可溶性の種は成熟2量体（あるいは、その活性フラグメント）とプロドメインの一部若しくは全部と複合体を形成することにより製剤することができる。各種の血清蛋白質を含む、他の成分もまた有用である。可溶性モルフォゲン複合体の製剤の更なる詳細な説明は以下の実施例4に開示されている。

最後に、本発明で提供されるモルフォゲン若しくはモルフォゲン促進剤は、単独若しくは他の分子、特に、症状軽減補助因子との併用で投与することができる。

有用な薬理学的補助因子としては、抗感染症剤、抗生物質、麻酔剤及び鎮痛剤が

含まれる。本発明の系で用いられる好ましい抗感染症剤としては、クロルヘキシジン、ヨウ化チベゾニウムが含まれる；好ましい抗生物質としては、テトラサイクリン、ネオマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、トブラマイシン、ネチルマイシン、シソマイシン、アミカマイシン、それらの硫酸塩若しくはそれらの誘導体のようなアミノグリコシド、エリスロマイシン、その塩及びその誘導体のようなマクロライド、スピラマイシン、ジョサマイシン、ミオカマイシンや、アンピシリン、アモキシリン等のようなペニシリンや、例えば、セファクロル、セファドロキシル、セファゾリン、セフォペラゾン、セファトキシム、セファロシン、セファレキシン、セフォラニド、セフォニシド若しくはセフトリアクソンのようなセファロスポリンがあげられる。好ましい麻酔剤／鎮痛剤は、リドカイン、メピバカイン、ピロカイン、ブピバカイン、プリロカイン、エチドカインのような、アミド型局所麻酔剤あるいは他の広く使用されているプロカインのような麻酔剤があげられる。

他の補助因子としては、非ステロイド性の抗炎症剤があげられる。しかしながら、本発明で開示されるモルフォゲンは初期の組織損傷に対する生体の炎症／免疫反応を調節する。特定の、国際出願US92/07358 (WO93・04692) で開示されているように、モルフォゲンの存在下では、組織損傷部位に移動するよう誘導された前駆体炎症性エフェクター細胞はそれほど活性化されない。いかなる理論にも制限されずに、モルフォゲン存在下では、損傷した組織は組織形態形成の発生反復されるよう誘導され、そこで、前駆体細胞が組織特異的方法で増殖及び分化が誘導され、そして、崩壊した、線維化したはん痕より、損傷若しくは損失した組織を置換するよう、新しい、機能的な、組織化された組織が形成される。

製剤組成物は治療的に有効な量のモルフォゲン、例えば、歯周靱帯、セメント質の形態形成を含み、歯周組織の成長、発達を促進、及び／若しくは実質的に歯周組織損失の抑制するのに十分な時間歯表面に適切な濃度のモルフォゲンを供給する量、を含有する。

当業者に理解できるように治療組成物に開示された化合物の濃度はいろいろな

因子、選択されたモルフォゲンの生物学的有効性、用いられる化学的特性（例えば疎水性）や、投与経路や想定された処置により変化する。投与されるべき薬剤の好ましい用量は、おそらく、歯槽内の組織の状況、歯若しくは歯槽の大きさ、損失後の時間の長さ、歯周組織損失の程度、特定の患者の全体の健康状態のような変数に依存する。投与されるモルフォゲンの量は、また、歯の大きさに依存する。一般に、 $0.1-1000\mu\text{g}$ のモルフォゲンが、好ましくは、 $0.1-100\mu\text{g}$ で十分である。例えば、大きな歯、例えば、切歯若しくは、大量の、約 $10-100\mu\text{g}$ 、好ましくは、 $50\mu\text{g}$ のモルフォゲンが有利に用いることができる；中位の歯は約 $5-50\mu\text{g}$ で、好ましくは、 $25\mu\text{g}$ で、治療することができる；そして、小さい歯は約 $1-25\mu\text{g}$ で、好ましくは $5-10\mu\text{g}$ のモルフォゲンで治療できる。成熟モルフォゲンが（例えば、OP-1、 $20\mu\text{g}$ ）連続21日間正常な生育期のラットに毎日投与されたとしても、モルフォゲン誘導の病理学的病変は認められなかった。さらに、毎日10日間正常新生マウスに $10\mu\text{g}$ のモルフォゲンの全身注射（例えば、OP-1）をしても、おおきな異常所見はみられなかった。

2. 歯の調製

健全な歯根及び歯髓系を有する生育可能な歯を移植するか、義歯を移植することにより、歯の損失を修復することができる。義歯は歯根が除去され、生体内適合性で、生物学的に不活性な材料、例えば、典型的なものとして、例えば、歯槽内での歯の再生を促進する多孔性材料にコートされた人工義歯で置換される。有用な義歯塗布材料としては、コラーゲン線維、セラミックス及び酸化チタンのような金属があげられる。移植歯の歯根を、まず、以下に説明されるように、部分的に脱灰することができる。別の方法では、清浄な、脱灰した天然歯、象牙質含有義歯を移植することができる。

最初に移植されるべき歯は、例えば、歯槽から天然歯を喪失させたり、除去したりして、例えば、歯科技術に熟練した者にはよく知られている標準的な歯の抜き取り方法などを利用して得られる。別の方法では、歯のバンクから同種異系の

歯を得ることができる。天然の、石灰化した歯、若しくは、歯根はモルフォゲン

と共に塗布されたり、以下に説明するように移植することができる。別の方法では、石灰化した、天然の歯はまた、薄い外部層を、例えば、歯の表面から、厚さで、少なくとも、1-5個の細胞を除去するのに、簡単に酸性溶液（例えば、クエン酸ナトリウム、約pH3.5）で処理することができる。

好ましい処理時間は、約0.5から5分である。処理された歯は好ましくは、その後洗浄され、乾燥され、以下に述べるようモルフォゲンでコートされる。別の選択では、歯根部分を移植前に、どのような従来の方法によってでも、少なくとも部分的に脱灰することができる。現在好ましい脱灰方法は、歯から少なくとも、いくつかの、ミネラル成分を除去するのに十分な時間、脱灰溶液に歯を浸漬することである。例えば、少なくとも歯の歯根部分を、例えば、4℃、0.5-0.6M HCl、で前述した分数、（例えば、好ましくは、約10-200分の範囲で）部分的な脱灰を完遂するのに十分な時間、例えば、低温で、0.025-1Lの、塩酸（HCl）のような脱灰剤の中に置いておくことができる。本質的に1-7日酸に曝すことにより完全な脱灰ができる。望む場合は、何回か、脱灰剤を換えて行うことができる。部分脱灰歯は脱灰の前と同じ形をするであろうが、ミネラル成分がないため、重量の減少がある。歯は、その後凍結乾燥で乾燥することができる。

歯及び義歯を以下のように形態形成蛋白質で処理することができる。モルフォゲンを蛋白質を表面に吸着する従来知られている方法で歯、若しくは、義歯の歯根表面に塗布することができる。現在、好ましい方法として、歯表面をおおうのに十分な小さい容積に、例えば、200-300 μ lの、モルフォゲンをいれて、歯を溶液で凍結し、凍った液を凍結乾燥する。現在好ましい溶液は、エタノール（例えば、50%）若しくは、アセトニトリル／トリフルオロ酢酸（TFA）、で、他の溶液としては、HCl／TFA、生理食塩緩衝液、などがあげられる。別のものでは、若しくはさらに、治療薬を上記した適切な担体材料に分散した歯根表面に供給することができる。同様に、上述したように治療薬を歯槽表面及びモルフォゲン組成物に包埋され、移植されるべき歯に供給することができる。

また、上述したようにモルフォゲンを一つ以上の補助因子と混合して歯根表面

に供給することができる。

歯はその後新鮮な若しくは外科的に調製した歯槽に移植することができる。外科的に調製した表面は、歯を抜き出し、はん痕、若しくは歯槽内にできた望ましくない繊維性組織を外科及び歯科でよく知られている標準的な機械的、及び／若しくは化学的方法で除去することで調製される。歯はその後標準的な歯科及び外科的な方法を用いてその部位に移植される。

移植された歯は歯周組織が再生するのに十分な時間、例えば、1-7カ月の間調製された歯槽で成長する。形成した歯の形成性や健全さをレントゲンや肉眼観察で歯科医によって検査することができる。

実験的な目的で、モルフォゲン処理に続く移植歯の形成を、歯槽及び歯を含め下顎骨全区域を除去し、下顎骨区域の横断切片を試験することにより形成性及び健全さを検査することができる。5-10 μ mの横断切片を標準的は病理学的評価、例えば、組織をホルマリンで固定し切片を調製し、エオシン-ヘマトキシリンで染色するなどのように、病理学的評価のために調製することができる。骨、セメント質、象牙質のような、硬組織の成長及び形成もまた、レントゲンで評価できる。

最後に、以下の実施例2で開示されているように、本発明のモルフォゲンは損失若しくは損傷した象牙質の区域に投与された場合象牙質組織の形態形成を誘導する。従って、本発明及び国際出願（US92/01968（WO92/15323））に開示されている方法を用いて本発明で開示されているモルフォゲンを移植した歯で、損傷、及び／若しくは損失した象牙質組織を修復及び再生するのに使用することができる。

IV. 実施例

実施例1. 犬モデルでの実験的歯周組織再生

以下の実験は哺乳動物における移植した脱灰、蛋白抽出モルフォゲン処置歯の再生の成功例を示す。小白歯を犬から抜き取り、3つの実験群に分けた；（a）

脱灰歯；（b）脱灰及びグアニジン抽出歯；（c）脱灰、グアニジン抽出、モルフォゲン処理歯。各群からの歯を、外科的に調製された歯槽、例えば、2カ月前

に抜き取られ、そこにはん痕組織が形成された歯からの歯槽のみならず、新鮮な歯槽、例えば、ちょうど抜き取られたばかりの歯からの歯槽で試験された。これらの治癒した歯槽は歯の移植のために、新鮮な歯槽骨に現れるはん痕組織を除去（例えば掻き取り）することにより外科的に調製される。

3つの全ての群からの歯を4℃で、4Lの0.5M HClに5日間放置して完全に脱灰した。0.5M HCl溶液は5日間、24時間毎に交換した。その後歯を4Lの脱イオン化水で4℃で5日間洗浄した。水溶液は、5日間24時間毎に交換した。群(a)からの歯はその後乾燥するまで凍結乾燥し、使用するまで4℃に保った。

群(b)と(c)からの歯は6MグアニジンHClで何回もの抽出で蛋白抽出され、引き続き、蒸留水で洗浄された。特に、歯は、4℃で72時間、2-4Lの6Mグアニジン-HCl/Tris HCl pH7.0に放置され、洗浄されさらに200mlのグアニジン-HCl溶液で4時間抽出された。歯は4Lの蒸留水dH₂Oで4℃で48時間、4LのdH₂Oでさらに12時間、dH₂Oを3回交換して洗浄した。その後歯は乾くまで凍結乾燥された。群(b)からの歯はその後、使用前まで4℃で保たれた。

群(c)からの歯は以下のようにモルフォゲンOP-1で処理された。1. 15mgのOP-1を4mlの47.5%のエタノール溶液/0.09%のトリフルオロ酢酸(TFA)に再懸濁した。濃度は0.273mg/mlと測定された。約50μgのOP-1(183μlのOP-1溶液)をエッペンドルフ試験管に分配し全容量を300μlの47.5%エタノール/0.09%TFAにした。各歯がOP-1溶液にちょうどつかないようにエッペンドルフ試験管に入れた。試験管をOP-1溶液が凍るまで-70℃に置いて、乾くまで凍結乾燥した。凍結乾燥中、試験管を冷却したままになるよう注意した。約50-70%のOP-1が、凍結乾燥後に歯の中、若しくは上に残存することが期待できる。

(a) (b) 及び (c) の各群からの歯は、従来技術で知られている標準的な

歯外科的方法を用いて新鮮に調製された歯槽若しくは外科的に調製された歯槽に移植された。

3つの全ての群の移植歯は2カ月歯槽内に残された。犬はその後屠殺され、下顎骨の横断切片を作成、X線撮影、病理学的検査がなされた。結果を以下に説明する。

脱灰歯基質のみが移植された群（a）の移植歯に骨性癒着が見られた。群（a）の下顎骨の横断切片の観察から、脱灰歯が、歯根に、若しくは象牙質表面に直接ついている骨に囲まれていることが明らかであった。さらに、歯と骨の間の新しい組織の成長は殆どなかった。代表的な病理を図2Aの光学顕微鏡写真に示すが、そこには骨組織14が移植歯の歯組織22のところへ直接成長している示している。

群（b）移植歯の横断切片では、移植された脱灰、グアニジン抽出歯のまわりに器官形成されていない繊維性組織の形成が明らかであった。歯周靱帯は、まわりの骨性組織のように、弛緩して組織化されていなかった。セメント質基質が正常に見える歯根表面の試験では歯の上部冠表面でのセメント質の再吸収があきらかであった。病理学的切片でマクロファージの存在で証明されるように炎症が起こっていることが明らかであった。

図2bより明らかなように、群（c）の移植歯横断切片では、モルフォゲン処理された歯基質のまわりの新しく生成された、組織化されたセメント質24と歯周靱帯26の形成と新しく形成した歯周組織を下顎骨に結合する新しい骨の成長が明らかであった。歯は歯槽内でしっかりと固定されていた。歯のまわりの組織、即ち、新しく形成された歯周靱帯に垂直に成長している新しく形成されたセメント質及び歯槽骨組織、全てが、図1に図式的に示される歯や歯槽のように健全でよく組織化されていた。新しく形成されたセメント質は成熟セメント芽細胞に変わりつつ平らになりつつある未成熟柱状細胞層からなり、新しく形成された歯周靱帯は歯槽内に歯を固定し、クッションの役をしている薄層の組織からなる。この実験の結果、モルフォゲンが歯槽内で歯の形成を促進すること、及び歯周組織、新セメント質、歯周靱帯の再生と形成の形態形成を含む歯周組織の形態形成

を誘導することが判明した。

特定の理論に制限されることなく、モルフォゲンは歯槽環境内で歯槽表面上の

一次線維芽細胞の分化させ、他の一次繊維芽細胞を歯周靱帯に誘導するセメント芽細胞に分化するのを誘導することにより作用をすることができる。

実施例2 モルフォゲン誘導象牙質形成

以下に示す実施例は動物モデルでの象牙質形態形成の誘導におけるモルフォゲンの有効性を示している。さらに、最初の実験や、モルフォゲンの生物学的意味の詳細については、国際出願（US92/01968（WO92/15323））に開示されている。

今日まで、歯髄組織が損傷に対してどう反応するか予期できないことが歯科分野での基本的な臨床上の問題であった。カニクイ猿が以下に示す回復性象牙質／歯髄の覆随法の霊長類モデルとして選択された。

標準的な歯外科的方法により歯髄の小区域（例えば2mm）を、試料歯の歯髄のすぐ上のエナメル質と象牙質とを除去し（ドリルで）、冠歯髄組織を部分的に切断し、血流遮断を誘導し歯髄処置を施し、標準的な方法で孔を密封し充填することにより外科的にむき出した。

用いられた歯髄処置は：担体基質に分散されたOP-1；担体基質単独で無処置。1動物につき12の歯（各処置に4個）が調製され、2頭の動物が使用された。4週目に、歯は抜き取られ象牙質形成の分析のため病理標本の作成、及び／若しくは象牙質石灰化の分析のために研磨された。モルフォゲン処置が劇的な効果を発現した：担体単独若しくは無処置（PBS）の対照処置では、損失組織の回復は殆どあるいは全く認められなかった。これとは対照的に、モルフォゲン処置歯は象牙質組織が外科的に除去された区域で象牙質組織の著しい形成が見られた。実験結果はモルフォゲン処置が回復性の、若しくは外科的にむき出された健全な歯髄の骨よう象牙質の形成を確実に誘導することが判明した。例えば、担体（米国特許第4、975、526号に開示されているように調製された脱灰された、グアニジン抽出された骨コラーゲン基質）に分散されたOP-1で歯髄処置が構成される図3Aをみると、顕微鏡写真から明らかなように、新しい象牙質形

成が効果的に架橋したり、外科的にむき出された歯髄を覆随し、歯髄組織の形成や生存性を維持している。これとは対照的に、担体基質単独で処置されたり、無

処置の歯髄は、回復性の象牙質形成ができなかった。例えば、担体（米国特許4、975、526号に開示されているように調製された脱灰された、グアニジン抽出された骨コラーゲン基質）単独で歯髄処置が構成される図3Bを見ると、顕微鏡写真から明かなように、むき出された歯髄組織を架橋するには不十分な僅かな回復性の象牙質形成が見られたのみであった。さらに処置しないと、そのようなむき出された、保護されていない歯髄組織は感染して、死んでしまう。

補足的な実験で、モルフォゲンの濃度範囲の試験をした。全ての場合、試験されたモルフォゲンは、Sampath らの(1992) J. Biol. Chem. 267:20352-20362、に開示されているように調製されたヒトOP-1が用いられ、担体材料/放出媒体("CM")は米国特許4、975、526号で開示されているように調製された骨コラーゲン基質であった。簡単に説明すると、皮質骨粉は新鮮に得られたウシ大腿骨から調製された。骨端は、付着している肉、骨髓が除去され、残っている脂質はヘキサン、イソプロパノール、エチルエーテルで抽出した。残った物は砕かれ、75-425 μ mの粒子径に篩いにかけられた。皮質骨粉はその後酸で脱灰され、可溶性蛋白質は、グアニジン塩酸で抽出された。脱灰された、抽出された骨粉は温酸処理にかけられ、水で洗浄され、凍結乾燥された。最終乾燥粉は425 μ mより大きな粒子は篩で除去され、4°Cで保存された。

hOP-1/CMのサンプルはhOP-1とCMを一緒にして真空中で乾燥して調製した。これらの実験で使った群は2.5 μ gのhOP-1/mg CM を含有していた。移植前に、サンプルは滅菌水溶液、好ましくは、食塩水、でペースト状物質になるよう加湿された。CM対照は、同じ方法でモルフォゲンを除いて調製された。サンプルは使用されるまで-20°Cで保存された。

歯髄の覆髄実験は4頭の約4kgの成熟、雌性非ヒト霊長類（赤毛ざる）を用いて行われた。動物は標準的な方法、例えば、ケタミン（15mg/kg体重）、アセプロマジン（0.55mg/kg体重）で、局所経口吸入麻酔で補助されて

鎮静化させた。

4 動物の30の小臼歯と臼歯をゴム製ダムで分離し、標準的な歯科的方法で、例えば滅菌冷却水スプレー付き高速回転切断機を用いて歯髓をむき出しにした。歯髓のむき出しは、約 $1-1.5 \times 2-2.5$ mmであった。部分的血流遮断を滅菌綿ペレットで行い、しかし、歯は処置前にはあまり乾燥させないようにした。むき出した歯髓を以下のように処置した：hOP-1/CM ($2.5 \mu\text{g}$ hOP-1/mg CM) を1.5, 3.0 若しくは 6.0 mg/歯；3個の対照の一つ：Ca(OH)₂ペースト、従来技術で用いられる標準的な歯髓覆髓剤("Dycal")；CM単独、3.0 mg/歯；若しくは無処置材。歯はその後標準的な接着剤で、例えば、Temp-Bond NE (Kerr 米国、Romulus, MI) でシールした。歯を6週間治癒させた。治癒期間中どの動物にも特記すべき行動上の変化は認められなかった。

動物は術後6週で屠殺し、標準的な手法を用いて病理学的分析のための標本が作成された。例えば、歯は10%ホルマリン磷酸緩衝生理食塩水(pH 7.2)につけて固定し、室温で6-8日間、蟻酸/クエン酸ソーダで脱灰し、標本をパラフィン包埋し連続切片($5 \mu\text{m}$)を作成し染色した。

hOP-1/CMで処置された、かつ試験された全てのOP1濃度で、全ての歯で、下にある歯髓組織をむき出しにした外科的に作られた間隙に架橋するのに十分な回復性に象牙質組織が形成された。以前の実験のように、モルフォゲン/CM器具が治癒した歯で吸収されており、回復性象牙質で置換され、むき出し部位で切断された象牙質と完全に統合されていた。また、以前の実験のように、キャップの下歯髓組織は外観上正常で歯髓槽に沿ってもとのままの象牙芽細胞があった。新しい象牙質組織の量はサンプル中で供給したOP-1の量に従って増加し、これは、形成される回復性象牙質の量が投与したOP1/CMの量に関連するということを示している。CM単独の歯髓処置や無処置では、むき出し部位には架橋が起こらずいくつかの場合に歯髓組織の壊死が見られた。Ca(OH)₂を用いた処置は間隙を架橋するのに成功したが、ペーストが残存し作られたブリッジが歯髓槽自身の中に存在していた。

実施例3. 内因性モルフォゲンレベルを変化させる候補化合物のスクリーニング

アッセイ

投与したモルフォゲンのレベルに影響するように投与することができる候補化合物（群）を以下のスクリーニングアッセイを用いて発見できる。そこでは、測定可能なモルフォゲンを産生するタイプの細胞により産生するモルフォゲンのレベルが化合物の細胞に対する効果を評価するために化合物と一緒に細胞をインキュベートするか、しないで測定する。これは、蛋白質若しくはRNAレベルのいずれかでモルフォゲンの検出ができる。さらに詳細については、ここで参考文献として引用している国際出願US92/07359（WO93/05172）でも開示されている。

3. 1 培養細胞の成長

腎臓、副腎、膀胱、脳、若しくは他の器官の細胞培養は文献に広く開示されているように調製することができる。例えば、腎臓は新生、若い、若しくは成熟齧歯類（マウス、若しくはラット）から体外移植することができ、全体、若しくは薄切（1-4 mm）組織として器官培養に用いることができる。腎臓、副腎、膀胱、脳、乳腺、若しくは他の組織由来の一次培養組織や樹立細胞株は従来の細胞培養技術に従って、多穴プレート（6穴若しくは24穴）で樹立することができ、期間中（1-7日）血清（例えば1-10%のウシ胎児血清、ゴブコ製）の存在下若しくは不存在下で培養できる。細胞は、例えば、血清含有ダルベッコ修飾イーグル培地（Gibco, Long Island, NY）で、若しくは望まれる場合は血清フリーの培地で、若しくは特定の培地（例えば、インスリン、トランスフェリン、グルコース、アルブミン若しくは他の成長因子を含む）で培養できる。

モルフォゲン産生のレベルを試験するサンプルは、周期的に採取した培養上清、細胞分解物等を含み、OP-1産生をイムノブロット分析（Sambrookら、編、1989、分子クローニング、コールド スプリング ハーバプレス、コールド スプリング ハーバー、ニューヨーク）で評価し、あるいは細胞培養自身の一部を周期的に採取して、RNA分析用にポリA+RNAを調製するのに

使用できる。いくつかの培養では新たなOP-1合成を追跡するのに従来技術に

従って、 ^{35}S -メチオニン/ ^{35}S -システインの混合物を6-24時間で標識化した。そして、OP-1合成を従来方法に従って免疫沈降法で評価した。

3. 2 形態形成蛋白質レベルの測定

細胞タイプにより、モルフォゲンの産生を定量するために、その蛋白質に特異的なポリクロナル若しくはモノクロナル抗体を用いてモルフォゲンを検出するのにイムノアッセイを行うことができる。例えば、OP-1は、以下のように、ELISA法でOP-1に特異的なポリクロナル抗体を用いて検出できる。

$1\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ のアフィニティー精製したOP-1に特異的なポリクロナルウサギIgGを96穴プレートの各ウエルに加え、 37°C で1時間インキュベートする。各ウエルを4回、 $\text{pH}8.2$ 、Tween 20を含む 0.15M NaCl 、 0.167M ほう酸ナトリウム緩衝液 (BSB) で洗浄する。非特異的結合を最小限におさえるため、ウエルをBSB中1%牛血清アルブミン (BSA) で完全に満たしてブロックし 37°C で1時間インキュベートする。ウエルはその後4回、0.1%のTween 20含むBSBで洗浄する。培養上清の検査サンプルの適当な希釈溶液の部分標本 $100\mu\text{l}$ を、各ウエルに $n=3$ で加え、 37°C で30分インキュベートした。インキュベートした後、 $100\mu\text{l}$ のビオチン化ウサギ抗OP-1血清 (ストック溶液は約 $1\text{mg}/\text{ml}$ で使用前に1%BSAを含むBSBに1:400で希釈する) を各ウエルに加え 37°C 30分インキュベートする。ウエルをその後4回、0.1%のTween 20含むBSBで洗浄する。 $100\mu\text{l}$ のストレパビディン-アルカリ (Southern Biotechnology Associates, Inc. Birmingham, Alabama、使用前に0.1%のTween 20含むBSBで1:2000に希釈する) を各ウエルに加え、 37°C 30分インキュベートする。プレートを4回 $\text{pH}7.2$ 、 0.5M トリス緩衝食塩水 (TBS) で洗浄する。 $50\mu\text{l}$ の基質 (ELISA増幅システムキット、Life Technologies, Inc., Bethesda, MD) を各ウエルに加え、15分間、室温でインキュベートする。その後、 $50\mu\text{l}$ の増幅剤 (同じ増幅システムキット、

から) を加え、さらに15分間、室温でインキュベートした。反応は $50\mu\text{l}$ の

0.3M硫酸を加えて停止させた。各ウエルの溶液の490nmのOD値を記録する。培養液中の可溶性OP-1のレベルを定量するのにテストサンプルと平行して標準曲線を作成した。

ポリクロナル抗体は以下のように作られる。各ウサギに、500 μ lの完全フロインドアジュバントと混合した0.1%SDS中、100 μ g/500 μ lの抗原で一次免疫した。抗原は動物の背中や脇腹の多数の箇所皮下注射した。不完全フロインドアジュバントをもちいて同様な方法で1カ月後、ウサギに追加免疫した。検査用の血は7日後に耳静脈より採血する。追加免疫と検査をモルフォゲン抗原に対する抗体がELISA法で血清に検出できるまで、1カ月間隔で行った。その後、ウサギは100 μ gの抗原で追加免疫し、追加免疫後7日と10日に採血（1回15ml）した。

特定のモルフォゲンに特異的なモノクロナル抗体は以下のように調製出来る。マウスには大腸菌産生のOP-1モノマーを2回注射する。最初の注射には完全フロインドアジュバント中に100 μ gのOP-1を含有し皮下投与される。2回目の注射は不完全アジュバントに50 μ gのOP-1を含有し腹腔内に投与する。マウスはその後、8カ月間にわたり、いろいろな時間に4回の腹腔内注射で全部で230 μ gのOP-1（配列表番号5のアミノ酸307-431）を投与する。マウスには融合の1週間前に100 μ gのOP-1（307-431）と30 μ gのSMCC架橋剤で牛血清アルブミンに付加システインを介して結合させたN末ペプチド（Ser293-Asn309-Cys）で腹腔内に追加免疫する。この追加免疫は、融合前5日間（IP）、4日間（IP）、3日間（IP）、1日（IP）繰り返した。マウス脾細胞をミエローマ細胞（例えば653）とPEG 1500（ベーリンガー・マンハイム）を使って1:1の比率で融合し、融合細胞をプレートにのせ、抗原としてOP-1（307-431）を用いてOP-1特異抗体についてスクリーニングする。細胞融合とモノクロナルのスクリーニングの工程は従来技術で広く知られた標準的な本によく開示された標準的な操作で行うことが出来る。

実施例4. 可溶性モルフォゲン複合体

全身投与用の治療製剤に有用で、水溶液で改善された溶解性を有し、本質的にアミノ酸からなるモルフォゲンの現在好ましい型は、モルフォゲンファミリーに特徴的な7個以上のシステイン残基を有し、モルフォゲンファミリーの一員のプロ領域の一部若しくは全部、あるいはそれらの対立形質の、種の、あるいは他の配列変種からなるペプチドと複合体を形成している、少なくとも100アミノ酸のペプチド配列からなる2量体形態形成蛋白質である。好ましくは、2量体形態形成蛋白質が2個のペプチドと複合体形成している。また、2量体形態形成蛋白質は好ましくは非共有結合でプロ領域ペプチド若しくはペプチドと複合体を形成する。プロ領域ペプチドは、また好ましくは、与えられたモルフォゲンのプロ領域を特定する少なくともN末の18アミノ酸からなる。さらに好ましい具体例としては、プロ領域全長を実質的に特定するペプチドが用いられる。

他の可溶性のモルフォゲンは、当該蛋白質の未切断のプロ型の2量体や、2量体の一つのサブユニットが当該蛋白質の未切断プロ型であり、他のサブユニットが成熟型の蛋白質（その短縮型を含み、好ましくは切断プロドメインペプチドと非共有結合的に結合している）である“ヘミ2量体を含む”。

上述した如く、有用なプロドメインは全長のプロ領域の他、種々のその短縮型、特に、 Arg-Xaa-Xaa-Arg の蛋白分解酵素の分解部位で切断された短縮型を含む。例えば、OP-1では、可能なプロ配列は残基30-292（全長型）；48-292；158-292で特定される配列を含む。可溶性OP-1複合体の安定性はプロ領域が48-292短縮型のような短縮型よりむしろ全長型からなるときに昂進され、その残基30-47は、他のモルフォゲンのN末部分と相同性を有する配列を示し、全てのモルフォゲンに複合体安定性を昂進するのに特に有用であると信じられている。従って、現在のところ、好ましいプロ配列は与えられたモルフォゲンのプロ領域の全長型をコードする配列である。他の有用性を有すると期待されるプロ配列は生合成プロ配列、特に1以上のモルフォゲンプロ配列のN末部分由来の配列を含む配列を含むものである。

当業者には理解されるように、プロ領域をコードしている有用な配列は既知の

モルフォゲンをコードする遺伝子配列よりうることができる。別に、キメラ型の

プロ領域は1以上の既知のモルフォゲンの配列より構築できる。さらに他の選択では、1以上の既知のプロ領域配列の合成配列変種を作ることである。

他の好ましい局面では、有用なプロ領域ペプチドは、OP-1またはOP-2のプロ領域配列（例えば、配列表番号16及び20の、それぞれ、ヌクレオチド136-192及び152-211）の少なくともN末の8アミノ酸をコードするDNAまたはRNA配列と厳密な条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされるアミノ酸配列からなるポリペプチド鎖を含む。

4. 1. 馴化培地や体液から可溶性モルフォゲン複合体の分離

モルフォゲンは哺乳動物細胞から可溶性複合体として発現する。一般に、しかしながら、複合体は精製過程で、一般的には精製溶液によく添加される変性剤、例えば洗剤、アルコール、有機溶媒、水構造破壊剤や溶液のpHを下げるのに添加される化合物などに曝された時に解離する。変性剤のない条件で行う、馴化培地（別の選択では、血清、脳脊髄液、腹水などの体液）から精製する可溶性蛋白質の現在もっとも好ましい精製プロトコルを下記する。この方法は迅速で、再現性もよく実質的に純粋な形で可溶性モルフォゲン複合体が得られる。

可溶性モルフォゲン複合体は馴化培地から、変性剤なしで行われる、単純な3工程のクロマトグラフィープロトコルを利用して分離することが出来る。このプロトコルは培地（あるいは体液）をアフィニティーカラムに通し、次いでイオン交換クロマトグラフィーおよびゲル濾過クロマトグラフィーを実施する工程を含む。以下に述べるアフィニティーカラムはZn-IMACである。このプロトコルは各種のモルフォゲンの精製に一般的な適用が可能であり、それらの全ては以下に述べるプロトコルのほんの僅かの変更により単離可能であることが予測される。別のプロトコルとしては、免疫アフィニティーカラムで、これは、標準的な操作と、例えば、特定のモルフォゲンプロドメイン（例えば、蛋白A共役のセファロースカラムに結合した）に特異な抗体を用いて創られる。免疫アフィニティーカラムの開発のプロトコルは従来技術に開示されている。（例えば、Guide to Protein Purification、M. Deutsche

r、編、Academic Press, San Diego, 1990、特に第VII章及び第XI章参照)

本実験ではOP-1は従来技術(国際出願US90/05903 (WO91/05802) 参照)に開示されているように哺乳動物のCHO(チャイニーズハムスター卵巣)細胞で発現された。0.5%FBSを含むCHO細胞馴化培地は、最初に、固定化金属イオン・アフィニティークロマトグラフィー(IMAC)で精製された。馴化培地由来の可溶性OP-1複合体は選択的にZn-IMAC樹脂に結合し、その結合した複合体を効果的に溶出させるには、高濃度のイミダゾール(50mM イミダゾール、pH 8)が必要である。Zn-IMAC段階では、最初の流しの時及び35mMイミダゾール洗浄分画に溶出する多くのコンタミしている血清蛋白質から、可溶性OP-1を分離する。Zn-IMAC精製可溶性OP-1は次に50mM NaClを含む20M NaPO₄(pH 7.0)で平衡化されたS-セファロース・カチオン交換カラムに適用される。このS-セファロース段階ではさらに精製して、次のゲル濾過工程への調製のために可溶性OP-1複合体を濃縮するのに役立っている。蛋白質はTBSで平衡化されたセファクリル S-200HR カラムに載せられる。実質的に同じプロトコルを利用して、可溶性モルフォゲンを血清、脳脊髄液、腹水を含む一つ以上の体液から分離してもよい。

IMACはカラム容量の3倍量の0.2M ZnSO₄でチャージしたキレーティング・セファロース(ファルマシア)を用いて行われた。馴化培地はpH 7.0に滴定され、500mM NaCl、20mM HEPES(pH 7.0)で平衡化した樹脂に直接適用した。Zn-IMAC樹脂には樹脂1mL当たり80mLの最初の馴化培地を負荷した。負荷のあとカラムは平衡化緩衝液で洗浄され、殆どのコンタミ蛋白質は緩衝液中35mMイミダゾールで溶出した。可溶性OP-1複合体は、その後、20mM HEPESN 500mM NaCl溶液中、50mMイミダゾール(pH 8.0)で溶出した。

可溶性OP-1複合体を含む50mMイミダゾール溶出画分は9倍量の20mM NaPO₄で希釈し、50mM NaClを含む20mM NaPO₄(p

H7.0)で平衡化しているS-セファロースカラムに載せられた。S-セファロース樹脂に樹脂1mL当たり、800mLの最初の馴化培地を負荷した。負荷後S-セファロースカラムは平衡化緩衝液で洗浄され、20mM NaPO₄ (pH 7.0)中の100mM NaClで、引き続き300mMと500mM NaClで溶出された。300mM NaCl溶出分はさらにゲル濾過クロマトグラフィーで精製された。50mlの300mM NaCl溶出分を、トリス緩衝生理食塩水(TBS)、50mM トリス、150mM NaCl (pH 7.4)で平衡化されたセファクリル S-200HR (ファルマシア)に載せた。カラムは10mLの分画で流速5mL/分で溶出した。可溶性OP-1の見かけの分子量は蛋白質分子量標準(アルコール脱水素酵素, (ADH, 150kDa)、牛血清アルブミン(BSA, 68kDa)炭酸脱水酵素(CA, 30kDa)及びチトクロムC(cyt C, 12.5 kDa))と比較して決定した。S-200カラム分画の純度は、標準的なコマッシーブルーで染色したポリアクリルアミドSDSゲル上での分離により測定した。成熟OP-1とプロドメインの同一性は、標準的な逆相 C18 HPLCを用いて成熟OP-1をプロドメインから分離した後に、N末配列分析で測定した。

可溶性OP-1複合体は見かけ110kDaの分子量で溶出している。このことは、二つのプロドメイン(各々、39kDa)と結合している一つの成熟OP-1 2量体(35-36kDa)と可溶性OP-1複合体の予測される組成とよく一致している。最終的な複合体の純度は、適切な分画について還元型15%ポリアクリルアミドゲル分析により証明する事が出来る。

複合体成分は、S-200、又はS-200HRカラムからの複合体を含む分画を逆相C18 HPLCカラムにかけ、アセトニトリル・グラージエント(0.1%TFA)で溶出することにより証明できる。この段階で複合体は解離し、プロドメインと成熟種は分かれて溶出する。これらの分離した種はその後標準的な操作を利用して(例えば、Guide to Protein Purification, M. Deutscher、編、Academic Press, San Diego、1990、特にpp602-613参照)N末配列分析にか

けられ、分離された 36 kDa、39 kDa の蛋白の同一性について、それぞれ成熟モルフォゲン、単離された切断プロドメインとして確認された。

哺乳動物細胞産生 OP-1 から分離されたプロドメイン N 末配列分析で 2 つの形のプロ領域、即ち、インタクト型（配列表番号 16 の残基 30 から始まる）と短縮型（配列表番号 16 の残基 48 から始まる）があることがわかった。単離した成熟種のポリペプチドサブユニットの N 末配列分析では配列表番号 16 の残基 293、300、313、315、316 及び 318 から始まる成熟配列の一連の N 末があることが判明した。これらの全ては、標準的な骨誘導アッセイで示されるように活性である。

4. 2 in vitro 可溶性モルフォゲン複合体形成

培養培地や体液から可溶性複合体を精製する別の方法として、可溶性複合体は精製プロドメインや成熟 2 量体種からつくることもできる。複合体形成が成功するにはジスルフィド結合に影響せず、これらの分子の折りたたまれた構造を緩和するのに十分な変性条件下で成分の解離が必要である。好ましくは、変性条件が、切断プロドメインが、緩和された折りたたみ状件下で、成熟 2 量体種と結合する機会をもてるに十分な細胞内小孔の環境を擬似することである。そこで変性剤の溶液中の濃度は、プロドメインが 2 量体と結合したままで、2 量体とプロ領域の適切なリフォールディングが許容できるように制御され、好ましくは、段階的に減少させる。有用な変性剤としては、pH 4-10、好ましくは pH 6-8 の緩衝液中で、4-6 M の尿素、グアニジン塩酸塩 (GuHCl) を含む。そして、可溶性複合体は調節された透析か、変性剤の最終濃度が 0.1-2 M 以下の尿素、又は GuHCl、好ましくは 1-2 M 以下の尿素、又は GuHCl の溶液に希釈することによって形成され、つづいて好ましくは生理緩衝液に、希釈する事によって作られる。蛋白質精製や変性操作や考察については当該技術分野によく開示されており、適切な変性プロトコルをすぐに開発するための詳細は当業者によって容易に決められる。一つの有用なテキストは、例えば、Guide to Protein Purification、M. Deutscher、編、Academic Press, San Diego、1990、特に第 V

章。 複合体形成は一つ以上のシャペロン蛋白質を加えることにより支援される。

4. 3 可溶性モルフォゲン複合体の安定性

生理緩衝液中、例えば、トリス緩衝生理食塩水やリン酸緩衝生理食塩水など、での高度に精製された可溶性モルフォゲンの安定性は、いろいろな手段で増強できる。現在のところ、好ましくは、プロ配列（例えば、OP-1の配列表番号16の残基30-47）の少なくとも最初の18個のアミノ酸からなるプロ領域によるものであり、好ましくはプロ領域の全長である。残基30-47は他のモルフォゲンのN末部分と配列相同性を示し、全てのモルフォゲンの複合体の安定性を増強するのに特に有用と考えられている。可溶性モルフォゲン複合体の安定性を増強させる他の有用な手段は、3つのクラスの添加剤を含む。これらの添加剤は塩基性アミノ酸（例えば、L-アルギニン、リジンとベタイン）；非イオン性洗剤（例えば、Tween 80 又は Nonidet P-120）；とキャリア蛋白質（例えば、血清アルブミンとカゼイン）を含む。これらの添加剤の有用な濃度は、塩基性アミノ酸については1-100mM、好ましくは、10-70mM（50mMを含む）；非イオン性洗剤については0.01-1.0%、好ましくは、0.05-0.2%、0.1%（容量/容量）（0.1%（容量/容量）を含む）；キャリア蛋白質については0.01-1.0%、好ましくは0.05-0.2%、0.1%（重量/容量）（0.1%（重量/容量）を含む）を含む。

のを含む。

本発明はそれらの精神若しくは本質的特徴から離れずに他の特定の型でも具体化できる。本具体例は、従って、全ての点においてわかりやすく説明したものと考えられ、前述の説明で限定されるものではなく、本発明の範囲は、これまでの記述よりもむしろ付随する請求項で示される。また請求項と同等の意味及び範囲内にはいる全ての変化は、従って本発明に包含されるものと意図されるものである。

(1) 一般情報:

(i) 出願人:

(A) 名称: クリエイティブ バイオモレキュルズ, インコーポレイテッド
(Creative Biomolecules, Inc.)

(B) 街: 45 サウス ストリート (South Street)

(C) 市: ホプキントン (Hopkinton)

(D) 州: マサチューセッツ州 (MA)

(E) 国: アメリカ合衆国 (USA)

(F) 郵便コード (ZIP) : 01748

(G) 電話: 1-508-435-9001

(H) テレファックス: 1-508-435-0454

(I) テレックス:

(ii) 発明の名称: モルフォゲン誘導歯周組織再生

(iii) 配列の総数: 33

(iv) 郵便物の宛先:

(A) あて先: クリエイティブ バイオモレキュルズ, インコーポレイテッド

(Creative Biomolecules Inc.)

(B) 街: 45 サウス ストリート (South Street)

(C) 市: ホプキントン (Hopkinton)

(D) 州: マサチューセッツ州 (MA)

(E) 国: アメリカ合衆国 (USA)

(F) 郵便コード (ZIP) : 01748

(v) コンピューター解読形式:

(A) 媒体型: フロッピーディスク

(B) コンピューター: IBM PCコンパチブル

(C) 演算システム: PC-DOS/MS-DOS

(D) ソフト: PatentIn Release#1.0, バージョン#1.25

(vi) 現在の出願状況:

(A) 出願番号 :

(B) 出願日 :

(C) 分類 :

(v i i) これまでの出願状況

(A) 出願番号 :

(B) 出願日 :

(v i i i) 代理人情報 :

(A) 氏名 : キリーエスク, ロビンディ. (Kelley Esq, Robin D.)

(B) 登録番号 : 34,637

(C) リファレンス/ドケット番号 : CRP-067

(i x) 通信に関する情報 :

(A) 電話 : 617/248-7477

(B) テレファックス : 617/248-7100

(2) 配列番号 1 の情報 :

(i) 配列の性状 :

(A) 長さ : 97 アミノ酸

(B) 型 : アミノ酸

(C) 鎖の数 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(i i) 分子の型 : 蛋白質

(i x) 特徴 :

(A) 名称/キー : 蛋白質

(B) 部位 : 1 . . 97

(D) 他の情報 : / 標識 = 一般配列 1

/ 付記 = 各 X a a はそれぞれ別個に 20 個の天然に存在する L 型異
性体、 α -アミノ酸、またはその誘導体の 1 つを指す

(x i) 配列の記載 : 配列番号 1 :

```

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1      5      10      15
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
20      25      30
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35      40      45
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Xaa
50      55      60
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65      70      75      80
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Cys
85      90      95
Xaa

```

(2) 配列番号2の情報:

(i) 配列の性状:

- (A) 長さ: 97 アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (C) 鎖の数: 1 本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(ix) 特徴:

- (A) 名称/キー: 蛋白質
- (B) 部位: 1. . 97
- (D) 他の情報: /標識=一般配列2

/付記=各 X a a はそれぞれ別個に20個の天然に存在するL型異性体、 α -アミノ酸、またはその誘導体の1つを指す

(xi) 配列の記載: 配列番号2:


```

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1      5      10      15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
20      25      30

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35      40      45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Xaa
50      55      60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65      70      75      80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Cys
85      90      95

Xaa

```

(2) 配列番号3の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 97アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(C) 鎖の数: 1本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(ix) 特徴:

(A) 名称/キー: 蛋白質

(B) 部位: 1. . 97

(D) 他の情報: /標識=一般配列3

/付記=各Xaaはそれぞれ別個に、明細書に規定された、1つ以上の特定されたアミノ酸の群から選ばれる

(xi) 配列の記載: 配列番号3:

```

Leu Tyr Val Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Ala
1          5          10          15
Pro Xaa Gly Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa Xaa Pro
20          25          30
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
35          40          45
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Pro
50          55          60
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65          70          75          80
Val Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa Xaa Cys Gly Cys
85          90          95
Xaa

```

(2) 配列番号4の情報:

(i) 配列の性状:

- (A) 長さ: 102アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(ix) 特徴

- (A) 名称/キー: 蛋白質
- (B) 部位: 1. . 102
- (D) 他の情報: /標識=一般配列4

/付記=各Xaaはそれぞれ別個に、明細書に規定された、1つ以上の特定されたアミノ酸の群から選ばれる

(xi) 配列の記載: 配列番号4:

```

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Tyr Val Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa
1          5          10          15
Xaa Trp Xaa Xaa Ala Pro Xaa Gly Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly
20          25          30

```

(2) 配列番号5の情報:

(A) 長さ : 139 アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(i i) 分子の型：蛋白質

(v i) 由来

(A) 名称：ホモサピエンス

(F) 組織型：海馬

(ix) 特徴

(A) 名称／キ一：蛋白質

(B) 部位 : 1 . . 1 3 9

(D) 他の情報：／標識=hOP1-成熟型

(x i) 配列の記載：配列番号5：

Ser	Thr	Gly	Ser	Lys	Gln	Arg	Ser	Gln	Asn	Arg	Ser	Lys	Thr	Pro	Lys
1				5					10					15	
Asn	Gln	Glu	Ala	Leu	Arg	Met	Ala	Asn	Val	Ala	Glu	Asn	Ser	Ser	Ser
			20					25					30		
Asp	Gln	Arg	Gln	Ala	Cys	Lys	Lys	His	Glu	Leu	Tyr	Val	Ser	Phe	Arg
		35					40					45			
Asp	Leu	Gly	Trp	Gln	Asp	Trp	Ile	Ile	Ala	Pro	Glu	Gly	Tyr	Ala	Ala
	50					55					60				
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Gly	Glu	Cys	Ala	Phe	Pro	Leu	Asn	Ser	Tyr	Met	Asn
65					70					75					80

```

      Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn Pro
                85                      90                      95
5      Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala Ile
                100                    105                    110
      Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr
                115                      120                      125
10     Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
                130                    135

```

(2) 配列番号6の情報:

(i) 配列の性状:

- (A) 長さ: 139アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(vi) 由来

- (A) 名称: ネズミ科
- (F) 組織型: 胎児

(ix) 特徴

- (A) 名称/キー: 蛋白質
- (B) 部位: 1. . 139
- (D) 他の情報: /標識=mOP1-成熟型

(xi) 配列の記載: 配列番号6:

```

Ser Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro Lys
1          5          10          15
Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn Ser Ser Ser
20        25        30
Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg
35        40        45
Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala
50        55        60
Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn
65        70        75        80
Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn Pro
85          90          95

```

Asp Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala Ile
 100 105 110
 Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr
 115 120 125
 Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
 130 135

(2) 配列番号7の情報:

(i) 配列の性状:

- (A) 長さ: 139アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(vi) 由来

- (A) 名称: ホモサピエンス
- (F) 組織型: 海馬

(ix) 特徴

- (A) 名称/キー: 蛋白質
- (B) 部位: 1. . 139
- (D) 他の情報: /標識=hOP1-成熟型

(xi) 配列の記載: 配列番号7:

Ala Val Arg Pro Leu Arg Arg Arg Gln Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu
 1 5 10 15
 Pro Gln Ala Asn Arg Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Val His Gly Ser
 20 25 30
 His Gly Arg Gln Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln
 35 40 45
 Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala
 50 55 60
 Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn
 65 70 75 80
 Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro
 85 90 95
 Asn Ala Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr
 100 105 110

Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys His
 115 120 125

Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
 130 135

(2) 配列番号8の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 139アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(vi) 由来

(A) 名称: ネズミ科

(F) 組織型: 胎児

(ix) 特徴

(A) 名称/キー: 蛋白質

(B) 部位: 1..139

(D) 他の情報: /標識=mOP1-成熟型

(xi) 配列の記載: 配列番号8:

Ala Ala Arg Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys Thr Asn Glu Leu
 1 5 10 15
 Pro His Pro Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Gly His Gly Ser
 20 25 30
 Arg Gly Arg Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg
 35 40 45
 Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala
 50 55 60
 Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn
 65 70 75 80
 Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro
 85 90 95
 Asp Val Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr
 100 105 110
 Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys His
 115 120 125
 Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
 130 135

(2) 配列番号9の情報:

(i) 配列の性状:

- (A) 長さ: 101アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(vi) 由来

- (A) 名称: ウシ科

(ix) 特徴

- (A) 名称/キー: 蛋白質
- (B) 部位: 1. . 101
- (D) 他の情報: /標識=CBMP-2A-FX

(xi) 配列の記載: 配列番号9:

Cys Lys Arg His Pro Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn
 1 5 10 15
 Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly
 20 25 30
 Glu Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala
 35 40 45
 Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala
 50 55 60
 Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp
 65 70 75 80
 Glu Asn Glu Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Asp Met Val Val Glu
 85 90 95
 Gly Cys Gly Cys Arg
 100

(2) 配列番号10の情報:

(i) 配列の性状:

- (A) 長さ: 101アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(vi) 由来

- (A) 名称: ホモサピエンス
- (F) 組織型: 海馬

(ix) 特徴

- (A) 名称/キー: 蛋白質
- (B) 部位: 1. . 101
- (D) 他の情報: /標識=CBMP-2B-FX

(xi) 配列の記載: 配列番号10:


```

Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn
1      5      10      15
Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr Cys His Gly
20      25      30
Asp Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala
35      40      45
Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Ser Ile Pro Lys Ala
50      55      60
Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp
65      70      75      80
Glu Tyr Asp Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Val Val Glu
85      90      95
Gly Cys Gly Cys Arg
100

```

(2) 配列番号 11 の情報 :

(i) 配列の性状 :

(A) 長さ : 102 アミノ酸

(B) 型 : アミノ酸

(C) 鎖の数 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : 蛋白質

(vi) 由来

(A) 名称 : キイロショウジョウバエ

(ix) 特徴

(A) 名称/キー : 蛋白質

(B) 部位 : 1 . . 101

(D) 他の情報 : / 標識 = DPP-FX

(xi) 配列の記載 : 配列番号 11 :

Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asp
 1 5 10 15
 Asp Trp Ile Val Ala Pro Leu Gly Tyr Asp Ala Tyr Tyr Cys His Gly
 20 25 30
 Lys Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Phe Asn Ser Thr Asn His Ala
 35 40 45
 Val Val Gln Thr Leu Val Asn Asn Asn Asn Pro Gly Lys Val Pro Lys
 50 55 60
 Ala Cys Cys Val Pro Thr Gln Leu Asp Ser Val Ala Met Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Asn Asp Gln Ser Thr Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Thr Val
 85 90 95
 Val Gly Cys Gly Cys Arg
 100

(2) 配列番号12の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 102アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(vi) 由来

(A) 名称: アフリカツメガエル

(ix) 特徴

(A) 名称/キー: 蛋白質

(B) 部位: 1. . 102

(D) 他の情報: /標識=VGL-FX

(xi) 配列の記載: 配列番号12:

Cys Lys Lys Arg His Leu Tyr Val Glu Phe Lys Asp Val Gly Trp Gln
 1 5 10 15
 Asn Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Met Ala Asn Tyr Cys Tyr Gly
 20 25 30
 Glu Cys Pro Tyr Pro Leu Thr Glu Ile Leu Asn Gly Ser Asn His Ala
 35 40 45

```

Ile Leu Gln Thr Leu Val His Ser Ile Glu Pro Glu Asp Ile Pro Leu
 50          55          60
Pro Cys Cys Val Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Ser Met Leu Phe Tyr
65          70          75          80
Asp Asn Asn Asp Asn Val Val Leu Arg His Tyr Glu Asn Met Ala Val
      85          90          95
Asp Glu Cys Gly Cys Arg
          100

```

(2) 配列番号13の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 102アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(vi) 由来

(A) 名称: ネズミ科

(ix) 特徴

(A) 名称/キー: 蛋白質

(B) 部位: 1. . 102

(D) 他の情報: /標識=VGR-1-FX

(xi) 配列の記載: 配列番号13:

```

Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Val Gly Trp Gln
 1          5          10          15
Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly
20          25          30
Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
35          40          45
Ile Val Gln Thr Leu Val His Val Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys
50          55          60
Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Val Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65          70          75          80
Asp Asp Asn Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val
85          90          95

```

Arg Ala Cys Gly Cys His
100

(2) 配列番号14の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 106アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(iii) ハイポセチカル: 無し

(iv) アンチセンス: 無し

(vi) 由来

(A) 名称: ホモサピエンス

(F) 組織型: 脳

(ix) 特徴

(A) 名称/キー: 蛋白質

(B) 部位: 1..106

(D) 他の情報: /付記=" G D F - 1 (f x) "

(xi) 配列の記載: 配列番号14:

Cys	Arg	Ala	Arg	Arg	Leu	Tyr	Val	Ser	Phe	Arg	Glu	Val	Gly	Trp	His
1				5					10					15	
Arg	Trp	Val	Ile	Ala	Pro	Arg	Gly	Phe	Leu	Ala	Asn	Tyr	Cys	Gln	Gly
		20					25						30		
Gln	Cys	Ala	Leu	Pro	Val	Ala	Leu	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Pro	Pro	Ala
		35					40					45			
Leu	Asn	His	Ala	Val	Leu	Arg	Ala	Leu	Met	His	Ala	Ala	Ala	Pro	Gly
		50				55					60				
Ala	Ala	Asp	Leu	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Arg	Leu	Ser	Pro	Ile	Ser
65					70					75				80	
Val	Leu	Phe	Phe	Asp	Asn	Ser	Asp	Asn	Val	Val	Leu	Arg	Gln	Tyr	Glu
				85					90					95	
Asp	Met	Val	Val	Asp	Glu	Cys	Gly	Cys	Arg						
				100					105						

(2) 配列番号15の情報:

／標準 名称=“OPI”

(x i) 配列の記載：配列番号 16：

GGT	GCG	GCG	CGG	AGC	CGG	GTA	GCG	CGT	AGC	ATG	CAC	GTG	57			
										Met	His	Val				
										1						
CGC	TCA	CTG	CGA	GCT	GCG	GCG	CCG	CAC	AGC	TTC	GTG	GCG	CTC	TGG	GCA	105
Arg	Ser	Leu	Arg	Ala	Ala	Ala	Pro	His	Ser	Phe	Val	Ala	Leu	Trp	Ala	
	5						10				15					
CCC	CTG	TTC	CTG	CTG	CGC	TCC	GCC	CTG	GCC	GAC	TTC	AGC	CTG	GAC	AAC	153
Pro	Leu	Phe	Leu	Leu	Arg	Ser	Ala	Leu	Ala	Asp	Phe	Ser	Leu	Asp	Asn	
	20				25					30					35	
GAG	GTG	CAC	TCG	AGC	TTC	ATC	CAC	CGG	CGC	CTC	CGC	AGC	CAG	GAG	CGG	201
Glu	Val	His	Ser	Ser	Phe	Ile	His	Arg	Arg	Leu	Arg	Ser	Gln	Glu	Arg	
				40				45						50		
CGG	GAG	ATG	CAG	CGC	GAG	ATC	CTC	TCC	ATT	TTG	GGC	TTG	CCC	CAC	CGC	249
Arg	Glu	Met	Gln	Arg	Glu	Ile	Leu	Ser	Ile	Leu	Gly	Leu	Pro	His	Arg	
			55				60						65			
CCG	CGC	CCG	CAC	CTC	CAG	GGC	AAG	CAC	AAC	TCG	GCA	CCC	ATG	TTC	ATG	297
Pro	Arg	Pro	His	Leu	Gln	Gly	Lys	His	Asn	Ser	Ala	Pro	Met	Phe	Met	
		70					75					80				
CTG	GAC	CTG	TAC	AAC	GCC	ATG	GCG	GTG	GAG	GAG	GGC	GGC	GGG	CCC	GGC	345
Leu	Asp	Leu	Tyr	Asn	Ala	Met	Ala	Val	Glu	Glu	Gly	Gly	Gly	Pro	Gly	
	85					90					95					
GGC	CAG	GGC	TTC	TCC	TAC	CCC	TAC	AAG	GCC	GTC	TTC	AGT	ACC	CAG	GGC	393
Gly	Gln	Gly	Phe	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Lys	Ala	Val	Phe	Ser	Thr	Gln	Gly	
	100				105					110					115	
CCC	CCT	CTG	GCC	AGC	CTG	CAA	GAT	AGC	CAT	TTC	CTC	ACC	GAC	GCC	GAC	441
Pro	Pro	Leu	Ala	Ser	Leu	Gln	Asp	Ser	His	Phe	Leu	Thr	Asp	Ala	Asp	
			120					125						130		
ATG	GTC	ATG	AGC	TTC	GTC	AAC	CTC	GTG	GAA	CAT	GAC	AAG	GAA	TTC	TTC	489
Met	Val	Met	Ser	Phe	Val	Asn	Leu	Val	Gln	His	Asp	Lys	Glu	Phe	Phe	
			135				140						145			
CAC	CCA	CGC	TAC	CAC	CAT	CGA	GAG	TTC	CGG	TTT	GAT	CTT	TCC	AAG	ATC	537
His	Pro	Arg	Tyr	His	His	Arg	Glu	Phe	Arg	Phe	Asp	Leu	Ser	Lys	Ile	
		150					155					160				
CCA	GAA	GGG	GAA	GCT	GTC	ACG	GCA	GCC	GAA	TTC	CGG	ATC	TAC	AAG	GAC	585
Pro	Glu	Gly	Glu	Ala	Val	Thr	Ala	Ala	Glu	Phe	Arg	Ile	Tyr	Lys	Asp	
	165					170					175					
TAC	ATC	CGG	GAA	CGC	TTC	GAC	AAT	GAG	ACG	TTC	CGG	ATC	AGC	GTT	TAT	633
Tyr	Ile	Arg	Glu	Arg	Phe	Asp	Asn	Glu	Thr	Phe	Arg	Ile	Ser	Val	Tyr	
	180				185					190					195	
CAG	GTG	CTC	CAG	GAG	CAC	TTG	GGC	AGG	GAA	TCG	GAT	CTC	TTC	CTG	CTC	681
Gln	Val	Leu	Gln	Glu	His	Leu	Gly	Arg	Glu	Ser	Asp	Leu	Phe	Leu	Leu	
			200					205						210		
GAC	AGC	CGT	ACC	CTC	TGG	GCC	TCG	GAG	GAG	GGC	TGG	CTG	GTG	TTT	GAC	729
Asp	Ser	Arg	Thr	Leu	Trp	Ala	Ser	Glu	Glu	Gly	Trp	Leu	Val	Phe	Asp	
			215				220						225			

ATC ACA GCC ACC AGC AAC CAC TGG GTG GTC AAT CCG CGG CAC AAC CTG Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu 230 235 240	777
GGC CTG CAG CTC TCG GTG GAG ACG CTG GAT GGG CAG AGC ATC AAC CCC Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile Asn Pro 245 250 255	825
AAG TTG GCG GGC CTG ATT GGG CGG CAC GGG CCC CAG AAC AAG CAG CCC Lys Leu Ala Gly Leu Ile Glu Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Gln Pro 260 265 270 275	873
TTC ATG GTG GCT TTC TTC AAG GCC ACG GAG GTC CAC TTC CGC AGC ATC Phe Met Val Ala Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe Arg Ser Ile 280 285 290	921
CGG TCC ACG GGG AGC AAA CAG CGC AGC CAG AAC CGC TCC AAG ACG CCC Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro 295 300 305	969
AAG AAC CAG GAA GCC CTG CGG ATG GCC AAC GTG GCA GAG AAC AGC AGC Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu Asn Ser Ser 310 315 320	1017
AGC GAC CAG AGG CAG GCC TGT AAG AAG CAC GAG CTG TAT GTC AGC TTC Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe 325 330 335	1065
CGA GAC CTG GGC TGG CAG GAC TGG ATC ATC GCG CCT GAA GGC TAC GCC Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala 340 345 350 355	1113
GCC TAC TAC TGT GAG GGG GAG TGT GCC TTC CCT CTG AAC TCC TAC ATG Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met 360 365 370	1161
AAC GCC ACC AAC CAC GCC ATC GTG CAG ACG CTG GTC CAC TTC ATC AAC Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn 375 380 385	1209
CCG GAA ACG GTG CCC AAG CCC TGC TGT GCG CCC ACG CAG CTC AAT GCC Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala 390 395 400	1257
ATC TCC GTC CTC TAC TTC GAT GAC AGC TCC AAC GTC ATC CTG AAG AAA Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys 405 410 415	1305
TAC AGA AAC ATG GTG GTC CGG GCC TGT GGC TGC CAC TAGCTCCTCC Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His 420 425 430	1351
GAGAATTCAG ACCCTTTGGG GCCAAGTTTT TCTGGATCCT CCATTGCTCG CCTTGCCAG	1411

```

GAACCAGCAG ACCAACTGCC TTTTGTGAGA CCTTCCCCTC CCTATCCCCA ACTTTAAAGG      1471
TGTGAGAGTA TTAGGAAACA TGAGCAGCAT ATGGCTTTTG ATCAGTTTTT CAGTGGCAGC      1531
ATCCAATGAA CAAGATCTTA CAAGCTGTGC AGGCAAAACC TAGCAGGAAA AAAAAACAAC      1591
GCATAAAGAA AAATGGCCGG GCCAGGTCAT TGGCTGGGAA GTCTCAGCCA TGCACGGACT      1651
CGTTTCCAGA GGTAATTATG AGCGCCTACC AGCCAGGCCA CCCAGCCGTG GGAGGAAGGG      1711
GGCGTGGCAA GGGGTGGGCA CATTGGTGTC TGTGCGAAAG GAAAATTGAC CCGGAAGTTC      1771
CTGTAATAAA TGTCACAATA AAACGAATGA ATGAAAAAAAA AAAAAAAAAA A      1822

```

(2) 配列番号17の情報

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 431アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(xi) 配列の記載: 配列番号17:

```

Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala
 1           5           10
Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser
          20           25           30
Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser
          35           40           45
Gln Glu Arg Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu
          50           55           60
Pro His Arg Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro
          65           70           75
Met Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Gly Gly
          85           90           95
Gly Pro Gly Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser
          100          105          110
Thr Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr
          115          120          125
Asp Ala Asp Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys
          130          135          140

```


Glu Phe Phe His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu
 145 150 155 160
 Ser Lys Ile Pro Glu Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile
 165 170 175
 Tyr Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Arg Ile
 180 185 190
 Ser Val Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Leu Gly Arg Glu Ser Asp Leu
 195 200 205
 Phe Leu Leu Asp Ser Arg Thr Leu Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu
 210 215 220
 Val Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg
 225 230 235 240
 His Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser
 245 250 255
 Ile Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn
 260 265 270
 Lys Gln Pro Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe
 275 280 285
 Arg Ser Ile Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser
 290 295 300
 Lys Thr Pro Lys Asn Gln Gln Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu
 305 310 315 320
 Asn Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr
 325 330 335
 Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu
 340 345 350
 Gly Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn
 355 360 365
 Ser Tyr Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His
 370 375 380
 Phe Ile Asn Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln
 385 390 395 400
 Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile
 405 410 415
 Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
 420 425 430

(2) 配列番号18の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 1873塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

- (D) トポロジー：直鎖状
- (i i) 分子の型：cDNA
- (i i i) ハイポセチカル：無し
- (i v) アンチセンス：無し
- (v i) 由来
- (A) 名称：ネズミ科
- (F) 組織型：胎児
- (i x) 特徴
- (A) 名称／キー：CDS
- (B) 部位：104...1393
- (D) 他の情報：／機能＝“骨形成蛋白質
／産物＝“MOP I”
／付記＝MOP I (CDNA)”

(x i) 配列の記載：配列番号18：

CTGCAGCAAG TGACCTCGGG TCGTGGACCG CTGCCCTGCC CCCTCCGCTG CCACCTGGGG	60
CGGCGCGGGC CCGGTGCCCC GGATCGCGCG TAGAGCCGGC GCG ATG CAC GTG CGC	115
Met His Val Arg	
1	
TCG CTG CGC GCT GCG GCG CCA CAC AGC TTC GTG GCG CTC TGG GCG CCT	163
Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala Leu Trp Ala Pro	
5 10 15 20	
CTG TTC TTG CTG CGC TCC GCC CTG GCC GAT TTC AGC CTG GAC AAC GAG	211
Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser Leu Asp Asn Glu	
25 30 35	
GTG CAC TCC AGC TTC ATC CAC CGG CGC CTC CGC AGC CAG GAG CGG CGG	259
Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser Gln Glu Arg Arg	
40 45 50	
GAG ATG CAG CGG GAG ATC CTG TCC ATC TTA GGG TTG CCC CAT CGC CCG	307
Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu Pro His Arg Pro	
55 60 65	

CGC CCG CAC CTC CAG GGA AAG CAT AAT TCG GCG CCC ATG TTC ATG TTG Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro Met Phe Met Leu 70 75 80	355
GAC CTG TAC AAC GCC ATG GCG GTG GAG GAG AGC GGG CCG GAC GGA CAG Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Ser Gly Pro Asp Gly Gln 85 90 95 100	403
GGC TTC TCC TAC CCC TAC AAG GCC GTC TTC AGT ACC CAG GGC CCC CCT Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr Gln Gly Pro Pro 105 110 115	451
TTA GCC AGC CTG CAG GAC AGC CAT TTC CTC ACT GAC GCC GAC ATG GTC Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp Ala Asp Met Val 120 125 130	499
ATG AGC TTC GTC AAC CTA GTG GAA CAT GAC AAA GAA TTC TTC CAC CCT Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu Phe Phe His Pro 135 140 145	547
CGA TAC CAC CAT CGG GAG TTC CGG TTT GAT CTT TCC AAG ATC CCC GAG Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser Lys Ile Pro Glu 150 155 160	595
GGC GAA CGG GTG ACC GCA GCC GAA TTC AGG ATC TAT AAG GAC TAC ATC Gly Glu Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Asp Tyr Ile 165 170 175 180	643
CGG GAG CGA TTT GAC AAC GAG ACC TTC CAG ATC ACA GTC TAT CAG GTG Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Gln Ile Thr Val Tyr Gln Val 185 190 195	691
CTC CAG GAG CAC TCA GGC ACG GAG TCG GAC CTC TTC TTG CTG GAC AGC Leu Gln Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Leu Asp Ser 200 205 210	739
CGC ACC ATC TGG GCT TCT GAG GAG GGC TGG TTG GTC TTT GAT ATC ACA Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val Phe Asp Ile Thr 215 220 225	787
GCC ACC AGC AAC CAC TGG GTG GTC AAC CCT CGG CAC AAC CTG GGC TTA Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu Gly Leu 230 235 240	835
CAG CTC TCT GTG GAG ACC CTG GAT GGG CAG AGC ATC AAC CCC AAG TTG Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile Asn Pro Lys Leu 245 250 255 260	883
GCA GGC CTG ATT GGA CGG CAT GGA CCC CAG AAC AAG CAA CCC TTC ATG Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Gln Pro Phe Met 265 270 275	931

GTG GCC TTC TTC AAG GCC ACG GAA GTC CAT CTC CGT AGT ATC CGG TCC Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg Ser Ile Arg Ser 280 285 290	979
ACG GGG GGC AAG CAG CGC AGC CAG AAT CGC TCC AAG ACG CCA AAG AAC Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro Lys Asn 295 300 305	1027
CAA GAG GCC CTG AGG ATG GCC AGT GTG GCA GAA AAC AGC AGC AGT GAC Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn Ser Ser Ser Asp 310 315 320	1075
CAG AGG CAG GCC TGC AAG AAA CAT GAG CTG TAC CTC AGC TTC CGA GAC Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp 325 330 335 340	1123
CTT GGC TGG CAG GAC TGG ATC ATT GCA CCT GAA GGC TAT GCT GCC TAC Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala Tyr 345 350 355	1171
TAC TGT GAG GGA GAG TGC GCC TTC CCT CTG AAC TCC TAC ATG AAC GCC Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn Ala 360 365 370	1219
ACC AAC CAC GCC ATC GTC CAG ACA CTG GTT CAC TTC ATC AAC CCA GAC Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn Pro Asp 375 380 385	1267
ACA GTA CCC AAG CCC TGC TGT GCG CCC ACC CAG CTC AAC GCC ATC TCT Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala Ile Ser 390 395 400	1315
GTC CTC TAC TTC GAC GAC AGC TCT AAT GTC GAC CTG AAG AAG TAC AGA Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu Lys Lys Tyr Arg 405 410 415 420	1363
AAC ATG GTG GTC CGG GCC TGT GGC TGC CAC TAGCTCTTCC TGAGACCCTG Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His 425 430	1413
ACCTTTGCGG GGCCACACCT TTCCAAATCT TCGATGTCTC ACCATCTAAG TCTCTCACTG	1473
CCCACCTTGG CGAGGAGAAC AGACCAACCT CTCCTGAGCC TTCCCTCACC TCCCAACCGG	1533
AAGCATGTAA GGGTTCAGAA AACCTGAGCG TGCAGCAGCT GATGAGCGCC CTTTCCTTCT	1593
GGCACGTGAC GGACAAGATC CTACCAGCTA CCACAGCAAA CGCCTAAGAG CAGGAAAAAT	1653
GTCTGCCAGG AAAGTGTCCA GTGTCCACAT GGCCCCCTGGC GCTCTGAGTC TTTGAGGAGT	1713
AATCGCAAGC CTCGTTGAGC TGCAGCAGAA GGAAGGGCTT AGCCAGGGTG GCGCTGGCG	1773
TCTGTGTGA AGGGAACCA AGCAGAAGCC ACTGTAATGA TATGTCACAA TAAAACCCAT	1833
GAATGAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAGAATTC	1873

(2) 配列番号 19 の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 430 アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー : 直鎖状

(i i) 分子の型 : 蛋白質

(x i) 配列の記載 : 配列番号 19 :

```

Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala
 1           5           10
Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser
          20           25           30
Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser
          35           40           45
Gln Glu Arg Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu
          50           55           60
Pro His Arg Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro
 65           70           75           80
Met Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Ser Gly
          85           90           95
Pro Asp Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr
          100          105          110
Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp
          115          120          125
Ala Asp Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu
          130          135          140
Phe Phe His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser
          145          150          155          160
Lys Ile Pro Glu Gly Glu Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr
          165          170          175
Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Gln Ile Thr
          180          185          190
Val Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe
          195          200          205

```

```

Leu Leu Asp Ser Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val
 210                215                220

Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His
225                230                235                240

Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile
                245                250                255

Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys
                260                265                270

Gln Pro Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg
                275                280                285

Ser Ile Arg Ser Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys
290                295                300

Thr Pro Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn
305                310                315                320

Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val
                325                330                335

Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly
                340                345                350

Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser
                355                360                365

Tyr Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe
                370                375                380

Ile Asn Pro Asp Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu
385                390                395                400

Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu
                405                410                415

Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
                420                425                430

```

(2) 配列番号20の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 1723塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: cDNA

(vi) 由来

(A) 名称: ホモサピエンス

(F) 組織型: 海馬

(ix) 特徴

(A) 名称／キー：CDS

(B) 部位：490...1696

(D) 他の情報：／機能＝“骨形成蛋白質

／産物＝“hOP2-PP”

／付記＝hOP2(cDNA)”

(xi) 配列の記載：配列番号20：

```

GGCGCCGGCA GAGCAGGAGT GGCTGGAGGA GCTGTGGTTG GAGCAGGAGG TGGCACGGCA      60
GGGCTGGAGG GCTCCCTATG AGTGGCGGAG ACGGCCCAGG AGGCGCTGGA GCAACAGCTC      120
CCACACCGCA CCAAGCGGTG GCTGCAGGAG CTCGCCCATC GCCCCTGCGC TGCTCGGACC      180
GCGGCCACAG CCGGACTGGC GGGTACGGCG GCGACAGAGG CATTGGCCGA GAGTCCCAGT      240
CCGCAGAGTA GCCCCGGCCT CGAGGCGGTG GCGTCCCGGT CCTCTCCGTC CAGGAGCCAG      300
GACAGGTGTC GCGCGGCGGG GCTCCAGGGA CCGCGCTGA GGCCGGCTGC CCGCCCGTCC      360
CGCCCCGCCC CGCCGCCCGC CGCCCGCCGA GCCCAGCCTC CTGCGCTCG GGGCGTCCCC      420
AGGCCCTGGG TCGGCCGCGG AGCCGATGCG CGCCCGCTGA GCGCCCCAGC TGAGCGCCCC      480
CGGCCTGCC ATG ACC GCG CTC CCC GGC CCG CTC TGG CTC CTG GGC CTG      528
      Met Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu
        1             5             10

GCG CTA TGC GCG CTG GGC GGG GGC GGC CCC GGC CTG CGA CCC CCG CCC      576
Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Pro
      15             20             25

GGC TGT CCC CAG CGA CGT CTG GGC GCG CGC GAG CGC CGG GAC GTG CAG      624
Gly Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Val Gln
      30             35             40             45

CGC GAG ATC CTG GCG GTG CTC GGG CTG CCT GGG CGG CCC CGG CCC CGC      672
Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg
              50             55             60

GCG CCA CCC GCC GCC TCC CGG CTG CCC GCG TCC GCG CCG CTC TTC ATG      720
Ala Pro Pro Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met
              65             70             75

CTG GAC CTG TAC CAC GCC ATG GCC GGC GAC GAC GAC GAG GAC GGC GCG      768
Leu Asp Leu Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Asp Glu Asp Gly Ala
      80             85             90

```

CCC GCG GAG CGG CGC CTG GGC CGC GCC GAC CTG GTC ATG AGC TTC GTT Pro Ala Glu Arg Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val 95 100 105	816
AAC ATG GTG GAG CGA GAC CGT GCC CTG GGC CAC CAG GAG CCC CAT TGG Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp 110 115 120 125	864
AAG GAG TTC CGC TTT GAC CTG ACC CAG ATC CCG GCT GGG GAG GCG GTC Lys Glu Phe Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val 130 135 140	912
ACA GCT GCG GAG TTC CGG ATT TAC AAG GTG CCC AGC ATC CAC CTG CTC Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu 145 150 155	960
AAC AGG ACC CTC CAC GTC AGC ATG TTC CAG GTG GTC CAG GAG CAG TCC Asn Arg Thr Leu His Val Ser Met Phe Gln Val Val Gln Glu Gln Ser 160 165 170	1008
AAC AGG GAG TCT GAC TTG TTC TTT TTG GAT CTT CAG ACG CTC CGA GCT Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ala 175 180 185	1056
GGA GAC GAG GGC TGG CTG GTG CTG GAT GTC ACA GCA GCC AGT GAC TGC Gly Asp Glu Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys 190 195 200 205	1104
TGG TTG CTG AAG CGT CAC AAG GAC CTG GGA CTC CGC CTC TAT GTG GAG Trp Leu Leu Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu 210 215 220	1152
ACT GAG GAC GGG CAC AGC GTG GAT CCT GGC CTG GCC GGC CTG CTG GGT Thr Glu Asp Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly 225 230 235	1200
CAA CGG GCC CCA CGC TCC CAA CAG CCT TTC GTG GTC ACT TTC TTC AGG Gln Arg Ala Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg 240 245 250	1248
GCC AGT CCG AGT CCC ATC CGC ACC CCT CGG GCA GTG AGG CCA CTG AGG Ala Ser Pro Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg 255 260 265	1296
AGG AGG CAG CCG AAG AAA AGC AAC GAG CTG CCG CAG GCC AAC CGA CTC Arg Arg Gln Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu 270 275 280 285	1344
CCA GGG ATC TTT GAT GAC GTC CAC GGC TCC CAC GGC CGG CAG GTC TGC Pro Gly Ile Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys 290 295 300	1392

CGT CGG CAC GAG CTC TAC GTC AGC TTC CAG GAC CTC GGC TGG CTG GAC	1440
Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp	
305 310 315	
TGG GTC ATC GCT CCC CAA GGC TAC TCG GCC TAT TAC TGT GAG GGG GAG	1488
Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu	
320 325 330	
TGC TCC TTC CCA CTG GAC TCC TGC ATG AAT GCC ACC AAC CAC GCC ATC	1536
Cys Ser Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile	
335 340 345	
CTG CAG TCC CTG GTG CAC CTG ATG AAG CCA AAC GCA GTC CCC AAG GCG	1584
Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala	
350 355 360 365	
TGC TGT GCA CCC ACC AAG CTG AGC GCC ACC TCT GTG CTC TAC TAT GAC	1632
Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp	
370 375 380	
AGC AGC AAC AAC GTC ATC CTG CGC AAA GCC CGC AAC ATG GTG GTC AAG	1680
Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys	
385 390 395	
GCC TGC GGC TGC CAC T GAGTCAGCCC GCCCAGCCCT ACTGCAG	1723
Ala Cys Gly Cys His	
400	

(2) 配列番号 21 の情報 :

(i) 配列の性状 :

(A) 長さ : 402 アミノ酸

(B) 型 : アミノ酸 :

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : 蛋白質

(xi) 配列の記載 : 配列番号 21 :

Met Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys	
1 5 10 15	
Ala Leu Gly Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Pro Gly Cys Pro	
20 25 30	
Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Val Gln Arg Glu Ile	
35 40 45	
Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg Ala Pro Pro	
50 55 60	

Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu
 65 70 75 80
 Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Asp Glu Asp Gly Ala Pro Ala Glu
 85 90 95
 Arg Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val Asn Met Val
 100 105 110
 Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp Lys Glu Phe
 115 120 125
 Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala
 130 135 140
 Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu Asn Arg Thr
 145 150 155 160
 Leu His Val Ser Met Phe Gln Val Val Gln Glu Gln Ser Asn Arg Glu
 165 170 175
 Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ala Gly Asp Glu
 180 185 190
 Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys Trp Leu Leu
 195 200 205
 Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu Thr Glu Asp
 210 215 220
 Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Gln Arg Ala
 225 230 235 240
 Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Pro
 245 250 255
 Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg Arg Arg Gln
 260 265 270
 Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu Pro Gly Ile
 275 280 285
 Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys Arg Arg His
 290 295 300
 Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile
 305 310 315 320
 Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ser Phe
 325 330 335
 Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser
 340 345 350

 Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala
 355 360 365
 Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn
 370 375 380
 Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly
 385 390 395 400
 Cys His

(2) 配列番号22の情報

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 1926塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(vi) 由来

(A) 名称: ネズミ科

(F) 組織型: 胎児

(ix) 特徴

(A) 名称/キー: CDS

(B) 部位: 93...1289

(D) 他の情報: /機能= “骨形成蛋白質

/産物= “mOP2-PP”

/付記= “mOP2 cDNA”

(xi) 配列の記載: 配列番号22:

GCCAGGCACA GGTGCGCCGT CTGGTCCTCC CCGTCTGGCG TCAGCCGAGC CCGACCAGCT	60
ACCACTGGAT GCGCGCCGGC TGAAAGTCCG AG ATG GCT ATG CGT CCC GGG CCA	113
Met Ala Met Arg Pro Gly Pro	
1 5	
CTC TGG CTA TTG GGC CTT GCT CTG TGC GCG CTG GGA GGC GGC CAC GGT	161
Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly Gly His Gly	
10 15 20	
CCG CGT CCC CCG CAC ACC TGT CCC CAG CGT CGC CTG GGA GCG CGC GAG	209
Pro Arg Pro Pro His Thr Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu	
25 30 35	
CGC CGC GAC ATG CAG CGT GAA ATC CTG GCG GTG CTC GGG CTA CCG GGA	257
Arg Arg Asp Met Gln Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly	
40 45 50 55	

CGG CCC CGA CCC CGT GCA CAA CCC GCC GCT GCC CGG CAG CCA GCG TCC Arg Pro Arg Pro Arg Ala Gln Pro Ala Ala Arg Gln Pro Ala Ser 60 65 70	305
GCG CCC CTC TTC ATG TTG GAC CTA TAC CAC GCC ATG ACC GAT GAC GAC Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu Tyr His Ala Met Thr Asp Asp Asp 75 80 85	353
GAC GGC GGG CCA CCA CAG GCT CAC TTA GGC CGT GCC GAC CTG GTC ATG Asp Gly Gly Pro Pro Gln Ala His Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met 90 95 100	401
AGC TTC GTC AAC ATG GTG GAA CGC GAC CGT ACC CTG GGC TAC CAG GAG Ser Phe Val Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Thr Leu Gly Tyr Gln Glu 105 110 115	449
CCA CAC TGG AAG GAA TTC CAC TTT GAC CTA ACC CAG ATC CCT GCT GGG Pro His Trp Lys Glu Phe His Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly 120 125 130 135	497
GAG GCT GTC ACA GCT GCT GAG TTC CGG ATC TAC AAA GAA CCC AGC ACC Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Glu Pro Ser Thr 140 145 150	545
CAC CCG CTC AAC ACA ACC CTC CAC ATC AGC ATG TTC GAA GTG GTC CAA His Pro Leu Asn Thr Thr Leu His Ile Ser Met Phe Glu Val Val Gln 155 160 165	593
GAG CAC TCC AAC AGG GAG TCT GAC TTG TTC TTT TTG GAT CTT CAG ACG Glu His Ser Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr 170 175 180	641
CTC CGA TCT GGG GAC GAG GGC TGG CTG GTG CTG GAC ATC ACA GCA GCC Leu Arg Ser Gly Asp Glu Gly Trp Leu Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala 185 190 195	689
AGT GAC CGA TGG CTG CTG AAC CAT CAC AAG GAC CTG GGA CTC CGC CTC Ser Asp Arg Trp Leu Leu Asn His His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu 200 205 210 215	737
TAT GTG GAA ACC GCG GAT GGG CAC AGC ATG GAT CCT GGC CTG GCT GGT Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly 220 225 230	785
CTG CTT GGA CGA CAA GCA CCA CGC TCC AGA CAG CCT TTC ATG GTA ACC Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser Arg Gln Pro Phe Met Val Thr 235 240 245	833
TTC TTC AGG GCC AGC CAG AGT CCT GTG CGG GCC CCT CGG GCA GCG AGA Phe Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg 250 255 260	881

CCA CTG AAG AGG AGG CAG CCA AAG AAA ACG AAC GAG CTT CCG CAC CCC Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys Thr Asn Glu Leu Pro His Pro 265 270 275	929
AAC AAA CTC CCA GGG ATC TTT GAT GAT GGC CAC GGT TCC CGC GGC AGA Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Gly His Gly Ser Arg Gly Arg 280 285 290 295	977
GAG GTT TGC CGC AGG CAT GAG CTC TAC GTC AGC TTC CGT GAC CTT GGC Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly 300 305 310	1025
TGG CTG GAC TGG GTC ATC GCC CCC CAG GGC TAC TCT GCC TAT TAC TGT Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys 315 320 325	1073
GAG GGG GAG TGT GCT TTC CCA CTG GAC TCC TGT ATG AAC GCC ACC AAC Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn 330 335 340	1121
CAT GCC ATC TTG CAG TCT CTG GTG CAC CTG ATG AAG CCA GAT GTT GTC His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro Asp Val Val 345 350 355	1169
CCC AAG GCA TGC TGT GCA CCC ACC AAA CTG AGT GCC ACC TCT GTG CTG Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu 360 365 370 375	1217
TAC TAT GAC AGC AGC AAC AAT GTC ATC CTG CGT AAA CAC CGT AAC ATG Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys His Arg Asn Met 380 385 390	1265
GTG GTC AAG GCC TGT GGC TGC CAC TGAGGCCCCG CCCAGCATCC TGCTTCTACT Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His 395	1319
ACCTTACCAT CTGGCCGGGC CCCTCTCCAG AGGCAGAAAC CCTTCTATGT TATCATAGCT	1379
CAGACAGGGG CAATGGGAGG CCCTTCACCT CCCCTGGCCA CTTCCTGCTA AAATTCCTGGT	1439
CTTTCCCACT TCCTCTGTCC TTCATGGGGT TTCGGGGCTA TCACCCCGCC CTCTCCATCC	1499
TCCTACCCCA AGCATAGACT GAATGCACAC AGCATCCCAG AGCTATGCTA ACTGAGAGGT	1559
CTGGGGTCAG CACTGAAGGC CCACATGAGG AAGACTGATC CTTGGCCATC CTCAGCCAC	1619
AAATGGCAAAT TCTGGATGGT CTAAGAAGGC CCTGGAATTC TAAACTAGAT GATCTGGGCT	1679
CTCTGCACCA TTCATTGTGG CAGTTGGGAC ATTTTITAGGT ATAACAGACA CATACACTTA	1739
GATCAATGCA TCGCTGTAAT CTTTGAATC AGAGCTAGCT TGTTAGAAAA AGAATCAGAG	1799
CCAGGTATAG CGGTGCATGT CATTAATCCC AGCGCTAAAG AGACAGAGAC AGGAGAATCT	1859
CTGTGAGTTC AAGGCCACAT AGAAAGAGCC TGCTCTCGGA GCAGGAAAAA AAAAAAAAAAC	1919
GGAATTC	1926

(2) 配列番号23の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 399アミノ酸

(B) 型 : アミノ酸

(D) トポロジー : 直鎖状

(i i) 分子の型 : 蛋白質

(x i) 配列の記載 : 配列番号 23 :

Met	Ala	Met	Arg	Pro	Gly	Pro	Leu	Trp	Leu	Leu	Gly	Leu	Ala	Leu	Cys	1	5	10	15
Ala	Leu	Gly	Gly	Gly	His	Gly	Pro	Arg	Pro	Pro	His	Thr	Cys	Pro	Gln	20	25	30	
Arg	Arg	Leu	Gly	Ala	Arg	Glu	Arg	Arg	Asp	Met	Gln	Arg	Glu	Ile	Leu	35	40	45	
Ala	Val	Leu	Gly	Leu	Pro	Gly	Arg	Pro	Arg	Pro	Arg	Ala	Gln	Pro	Ala	50	55	60	
Ala	Ala	Arg	Gln	Pro	Ala	Ser	Ala	Pro	Leu	Phe	Met	Leu	Asp	Leu	Tyr	65	70	75	
His	Ala	Met	Thr	Asp	Asp	Asp	Asp	Gly	Gly	Pro	Pro	Gln	Ala	His	Leu	85	90	95	
Gly	Arg	Ala	Asp	Leu	Val	Met	Ser	Phe	Val	Asn	Met	Val	Glu	Arg	Asp	100	105	110	
Arg	Thr	Leu	Gly	Tyr	Gln	Glu	Pro	His	Trp	Lys	Glu	Phe	His	Phe	Asp	115	120	125	
Leu	Thr	Gln	Ile	Pro	Ala	Gly	Glu	Ala	Val	Thr	Ala	Ala	Glu	Phe	Arg	130	135	140	
Ile	Tyr	Lys	Glu	Pro	Ser	Thr	His	Pro	Leu	Asn	Thr	Thr	Leu	His	Ile	145	150	155	
Ser	Met	Phe	Glu	Val	Val	Gln	Glu	His	Ser	Asn	Arg	Glu	Ser	Asp	Leu	165	170	175	
Phe	Phe	Leu	Asp	Leu	Gln	Thr	Leu	Arg	Ser	Gly	Asp	Glu	Gly	Trp	Leu	180	185	190	

Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala Ser Asp Arg Trp Leu Leu Asn His His
 195 200 205
 Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser
 210 215 220
 Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser
 225 230 235 240
 Arg Gln Pro Phe Met Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val
 245 250 255
 Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys
 260 265 270
 Thr Asn Glu Leu Pro His Pro Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp
 275 280 285
 Gly His Gly Ser Arg Gly Arg Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr
 290 295 300
 Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln
 305 310 315 320
 Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp
 325 330 335
 Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His
 340 345 350
 Leu Met Lys Pro Asp Val Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys
 355 360 365
 Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile
 370 375 380
 Leu Arg Lys His Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
 385 390 395

(2) 配列番号24の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 1368塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: cDNA

(ix) 特徴

(A) 名称/キー: CDS

(B) 部位: 1. . 1368

(xi) 配列の記載: 配列番号24:

ATG TCG GGA CTG CGA AAC ACC TCG GAG GCC GTT GCA GTG CTC GCC TCC Met Ser Gly Leu Arg Asn Thr Ser Glu Ala Val Ala Val Leu Ala Ser 1 5 10 15	48
CTG GGA CTC GGA ATG GTT CTG CTC ATG TTC GTG GCG ACC ACG CCG CCG Leu Gly Leu Gly Met Val Leu Leu Met Phe Val Ala Thr Thr Pro Pro 20 25 30	96
GCC GTT GAG GCC ACC CAG TCG GGG ATT TAC ATA GAC AAC GGC AAG GAC Ala Val Glu Ala Thr Gln Ser Gly Ile Tyr Ile Asp Asn Gly Lys Asp 35 40 45	144
CAG ACG ATC ATG CAC AGA GTG CTG AGC GAG GAC GAC AAG CTG GAC GTC Gln Thr Ile Met His Arg Val Leu Ser Glu Asp Asp Lys Leu Asp Val 50 55 60	192
TCG TAC GAG ATC CTC GAG TTC CTG GGC ATC GCC GAA CCG CCG ACG CAC Ser Tyr Glu Ile Leu Glu Phe Leu Gly Ile Ala Glu Arg Pro Thr His 65 70 75 80	240
CTG AGC AGC CAC CAG TTG TCG CTG AGG AAG TCG GCT CCC AAG TTC CTG Leu Ser Ser His Gln Leu Ser Leu Arg Lys Ser Ala Pro Lys Phe Leu 85 90 95	288
CTG GAC GTC TAC CAC CGC ATC ACG GCG GAG GAG GGT CTC AGC GAT CAG Leu Asp Val Tyr His Arg Ile Thr Ala Glu Glu Gly Leu Ser Asp Gln 100 105 110	336
GAT GAG GAC GAC GAC TAC GAA CGC GGC CAT CGG TCC AGG AGG AGC GCC Asp Glu Asp Asp Asp Tyr Glu Arg Gly His Arg Ser Arg Arg Ser Ala 115 120 125	384
GAC CTC GAG GAG GAT GAG GGC GAG CAG CAG AAG AAC TTC ATC ACC GAC Asp Leu Glu Glu Asp Glu Gly Glu Gln Gln Lys Asn Phe Ile Thr Asp 130 135 140	432
CTG GAC AAG CGG GCC ATC GAC GAG AGC GAC ATC ATC ATG ACC TTC CTG Leu Asp Lys Arg Ala Ile Asp Glu Ser Asp Ile Ile Met Thr Phe Leu 145 150 155 160	480
AAC AAG CGC CAC CAC AAT GTG GAC GAA CTG CGT CAC GAG CAC GGC CGT Asn Lys Arg His His Asn Val Asp Glu Leu Arg His Glu His Gly Arg 165 170 175	528
CGC CTG TGG TTC GAC GTC TCC AAC GTG CCC AAC GAC AAC TAC CTG GTG Arg Leu Trp Phe Asp Val Ser Asn Val Pro Asn Asp Asn Tyr Leu Val 180 185 190	576

ATG GCC GAG CTG CGC ATC TAT CAG AAC GCC AAC GAG GGC AAG TGG CTG Met Ala Glu Leu Arg Ile Tyr Gln Asn Ala Asn Glu Gly Lys Trp Leu 195 200 205	624
ACC GCC AAC AGG GAG TTC ACC ATC ACG GTA TAC GCC ATT GGC ACC GGC Thr Ala Asn Arg Glu Phe Thr Ile Thr Val Tyr Ala Ile Gly Thr Gly 210 215 220	672
ACG CTG GGC CAG CAC ACC ATG GAG CCG CTG TCC TCG GTG AAC ACC ACC Thr Leu Gly Gln His Thr Met Glu Pro Leu Ser Ser Val Asn Thr Thr 225 230 235 240	720
GGG GAC TAC GTG GGC TGG TTG GAG CTC AAC GTG ACC GAG GGC CTG CAC Gly Asp Tyr Val Glu Trp Leu Glu Leu Asn Val Thr Glu Gly Leu His 245 250 255	768
GAG TGG CTG GTC AAG TCG AAG GAC AAT CAT GGC ATC TAC ATT GGA GCA Glu Trp Leu Val Lys Ser Lys Asp Asn His Gly Ile Tyr Ile Gly Ala 260 265 270	816
CAC GCT GTC AAC CGA CCC GAC CGC GAG GTG AAG CTG GAC GAC ATT GGA His Ala Val Asn Arg Pro Asp Arg Glu Val Lys Leu Asp Asp Ile Gly 275 280 285	864
CTG ATC CAC CGC AAG GTG GAC GAC GAG TTC CAG CCC TTC ATG ATC GGC Leu Ile His Arg Lys Val Asp Asp Glu Phe Gln Pro Phe Met Ile Gly 290 295 300	912
TTC TTC CGC GGA CCG GAG CTG ATC AAG GCG ACG GCC CAC AGC AGC CAC Phe Phe Arg Gly Pro Glu Leu Ile Lys Ala Thr Ala His Ser Ser His 305 310 315 320	960
CAC AGG AGC AAG CGA AGC GCC AGC CAT CCA CGC AAG CGC AAG AAG TCG His Arg Ser Lys Arg Ser Ala Ser His Pro Arg Lys Arg Lys Lys Ser 325 330 335	1008
GTG TCG CCC AAC AAC GTG CCG CTG CTG GAA CCG ATG GAG AGC ACG CGC Val Ser Pro Asn Asn Val Pro Leu Leu Glu Pro Met Glu Ser Thr Arg 340 345 350	1056
AGC TGC CAG ATG CAG ACC CTG TAC ATA GAC TTC AAG GAT CTG GGC TGG Ser Cys Gln Met Gln Thr Leu Tyr Ile Asp Phe Lys Asp Leu Gly Trp 355 360 365	1104
CAT GAC TGG ATC ATC GCA CCA GAG GGC TAT GGC GCC TTC TAC TGC AGC His Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Cys Ser 370 375 380	1152
GGC GAG TGC AAT TTC CCG CTC AAT GCG CAC ATG AAC GCC ACG AAC CAT Gly Glu Cys Asn Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His 385 390 395 400	1200

GCG ATC GTC CAG ACC CTG GTC CAC CTG CTG GAG CCC AAG AAG GTG CCC	1248
Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Leu Glu Pro Lys Lys Val Pro	
405 410 415	
AAG CCC TGC TGC GCT CCG ACC AGG CTG GGA GCA CTA CCC GTT CTG TAC	1296
Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Arg Leu Gly Ala Leu Pro Val Leu Tyr	
420 425 430	
CAC CTG AAC GAC GAG AAT GTG AAC CTG AAA AAG TAT AGA AAC ATG ATT	1344
His Leu Asn Asp Glu Asn Val Asn Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Ile	
435 440 445	
GTG AAA TCC TGC GGG TGC CAT TGA	1368
Val Lys Ser Cys Gly Cys His	
450 455	

(2) 配列番号25の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 455 アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(xi) 配列の記載: 配列番号25:

Met Ser Gly Leu Arg Asn Thr Ser Glu Ala Val Ala Val Leu Ala Ser	
1 5 10 15	
Leu Gly Leu Gly Met Val Leu Leu Met Phe Val Ala Thr Thr Pro Pro	
20 25 30	
Ala Val Glu Ala Thr Gln Ser Gly Ile Tyr Ile Asp Asn Gly Lys Asp	
35 40 45	
Gln Thr Ile Met His Arg Val Leu Ser Glu Asp Asp Lys Leu Asp Val	
50 55 60	
Ser Tyr Glu Ile Leu Glu Phe Leu Gly Ile Ala Glu Arg Pro Thr His	
65 70 75 80	
Leu Ser Ser His Gln Leu Ser Leu Arg Lys Ser Ala Pro Lys Phe Leu	
85 90 95	
Leu Asp Val Tyr His Arg Ile Thr Ala Glu Glu Gly Leu Ser Asp Gln	
100 105 110	
Asp Glu Asp Asp Asp Tyr Glu Arg Gly His Arg Ser Arg Arg Ser Ala	
115 120 125	

Asp Leu Glu Glu Asp Glu Gly Glu Gln Gln Lys Asn Phe Ile Thr Asp
 130 135 140
 Leu Asp Lys Arg Ala Ile Asp Glu Ser Asp Ile Ile Met Thr Phe Leu
 145 150 155 160
 Asn Lys Arg His His Asn Val Asp Glu Leu Arg His Glu His Gly Arg
 165 170 175
 Arg Leu Trp Phe Asp Val Ser Asn Val Pro Asn Asp Asn Tyr Leu Val
 180 185 190
 Met Ala Glu Leu Arg Ile Tyr Gln Asn Ala Asn Glu Gly Lys Trp Leu
 195 200 205
 Thr Ala Asn Arg Glu Phe Thr Ile Thr Val Tyr Ala Ile Gly Thr Gly
 210 215 220
 Thr Leu Gly Gln His Thr Met Glu Pro Leu Ser Ser Val Asn Thr Thr
 225 230 235 240
 Gly Asp Tyr Val Gly Trp Leu Glu Leu Asn Val Thr Glu Gly Leu His
 245 250 255
 Glu Trp Leu Val Lys Ser Lys Asp Asn His Gly Ile Tyr Ile Gly Ala
 260 265 270
 His Ala Val Asn Arg Pro Asp Arg Glu Val Lys Leu Asp Asp Ile Gly
 275 280 285
 Leu Ile His Arg Lys Val Asp Asp Glu Phe Gln Pro Phe Met Ile Gly
 290 295 300
 Phe Phe Arg Gly Pro Glu Leu Ile Lys Ala Thr Ala His Ser Ser His
 305 310 315 320
 His Arg Ser Lys Arg Ser Ala Ser His Pro Arg Lys Arg Lys Lys Ser
 325 330 335
 Val Ser Pro Asn Asn Val Pro Leu Leu Glu Pro Met Glu Ser Thr Arg
 340 345 350
 Ser Cys Gln Met Gln Thr Leu Tyr Ile Asp Phe Lys Asp Leu Gly Trp
 355 360 365
 His Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Gly Ala Phe Tyr Cys Ser
 370 375 380
 Gly Glu Cys Asn Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His
 385 390 395 400
 Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Leu Glu Pro Lys Lys Val Pro
 405 410 415

 Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Arg Leu Gly Ala Leu Pro Val Leu Tyr
 420 425 430
 His Leu Asn Asp Glu Asn Val Asn Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Ile
 435 440 445
 Val Lys Ser Cys Gly Cys His
 450 455

(2) 配列番号26の情報:

(i) 配列の性状：

(A) 長さ：104アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：蛋白質

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：蛋白質

(B) 部位：1. . 104

(D) 他の情報：／付記＝“BMP3”

(xi) 配列の記載：配列番号26：

Cys	Ala	Arg	Arg	Tyr	Leu	Lys	Val	Asp	Phe	Ala	Asp	Ile	Gly	Trp	Ser	1	5	10	15
Glu	Trp	Ile	Ile	Ser	Pro	Lys	Ser	Phe	Asp	Ala	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Gly	20	25	30	
Ala	Cys	Gln	Phe	Pro	Met	Pro	Lys	Ser	Leu	Lys	Pro	Ser	Asn	His	Ala	35	40	45	
Thr	Ile	Gln	Ser	Ile	Val	Ala	Arg	Ala	Val	Gly	Val	Val	Pro	Gly	Ile	50	55	60	
Pro	Glu	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Glu	Lys	Met	Ser	Ser	Leu	Ser	Ile	Leu	65	70	75	80
Phe	Phe	Asp	Glu	Asn	Lys	Asn	Val	Val	Leu	Lys	Val	Tyr	Pro	Asn	Met	85	90	95	
Thr	Val	Glu	Ser	Cys	Ala	Cys	Arg									100			

(2) 配列番号27の情報：

(i) 配列の性状：

(A) 長さ：102アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：蛋白質

(vi) 由来：

(A) 名称：ホモサピエンス

(i x) 特徴：

(A) 名称／キー：蛋白質

(B) 部位：1. . 102

(D) 他の情報：／付記＝“BMP 5”

(x i) 配列の記載：配列番号27：

Cys	Lys	Lys	His	Glu	Leu	Tyr	Val	Ser	Phe	Arg	Asp	Leu	Gly	Trp	Gln	1	5	10	15
Asp	Trp	Ile	Ile	Ala	Pro	Glu	Gly	Tyr	Ala	Ala	Phe	Tyr	Cys	Asp	Gly	20	25	30	
Glu	Cys	Ser	Phe	Pro	Leu	Asn	Ala	His	Met	Asn	Ala	Thr	Asn	His	Ala	35	40	45	
Ile	Val	Gln	Thr	Leu	Val	His	Leu	Met	Phe	Pro	Asp	His	Val	Pro	Lys	50	55	60	
Pro	Cys	Cys	Ala	Pro	Thr	Lys	Leu	Asn	Ala	Ile	Ser	Val	Leu	Tyr	Phe	65	70	75	80
Asp	Asp	Ser	Ser	Asn	Val	Ile	Leu	Lys	Lys	Tyr	Arg	Asn	Met	Val	Val	85	90	95	
Arg	Ser	Cys	Gly	Cys	His											100			

(2) 配列番号28の情報：

(i) 配列の性状：

(A) 長さ：102アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(C) 鎖の数：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(i i) 分子の型：蛋白質

(v i) 由来：

(A) 名称：ホモサピエンス

(i x) 特徴：

(A) 名称／キー：蛋白質

(B) 部位：1. . 102

(D) 他の情報：／付記＝“BMP 6”

(x i) 配列の記載：配列番号 28：

Cys	Arg	Lys	His	Glu	Leu	Tyr	Val	Ser	Phe	Gln	Asp	Leu	Gly	Trp	Gln
1				5				10						15	
<hr/>															
Asp	Trp	Ile	Ile	Ala	Pro	Lys	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asn	Tyr	Cys	Asp	Gly
			20					25					30		
Glu	Cys	Ser	Phe	Pro	Leu	Asn	Ala	His	Met	Asn	Ala	Thr	Asn	His	Ala
		35					40					45			
Ile	Val	Gln	Thr	Leu	Val	His	Leu	Met	Asn	Pro	Glu	Tyr	Val	Pro	Lys
	50					55					60				
Pro	Cys	Cys	Ala	Pro	Thr	Lys	Leu	Asn	Ala	Ile	Ser	Val	Leu	Tyr	Phe
65					70					75					80
Asp	Asp	Asn	Ser	Asn	Val	Ile	Leu	Lys	Lys	Tyr	Arg	Trp	Met	Val	Val
				85					90					95	
Arg	Ala	Cys	Gly	Cys	His										
				100											

(2) 配列番号 29 の情報：

(i) 配列の性状：

(A) 長さ：102 アミノ酸

(B) 型：アミノ酸

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：蛋白質

(ix) 特徴：

(A) 名称／キー：蛋白質

(B) 部位：1 . . 102

(D) 他の情報：／標識＝OPX

／付記＝各 X a a はそれぞれ別個に、明細書に規定された、1 つ以上の特定されたアミノ酸の群から選ばれる

(x i) 配列の記載：配列番号 29：

Cys	Xaa	Xaa	His	Glu	Leu	Tyr	Val	Xaa	Phe	Xaa	Asp	Leu	Gly	Trp	Xaa
1				5				10						15	

```

Asp Trp Xaa Ile Ala Pro Xaa Gly Tyr Xaa Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly
      20              25              30
Glu Cys Xaa Phe Pro Leu Xaa Ser Xaa Met Asn Ala Thr Asn His Ala
      35              40              45
-----
Ile Xaa Gln Xaa Leu Val His Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Val Pro Lys
      50              55              60
Xaa Cys Cys Ala Pro Thr Xaa Leu Xaa Ala Xaa Ser Val Leu Tyr Xaa
      65              70              75              80
Asp Xaa Ser Xaa Asn Val Xaa Leu Xaa Lys Xaa Arg Asn Met Val Val
      85              90              95
Xaa Ala Cys Gly Cys His
      100

```

(2) 配列番号30の情報:

(i) 配列の性状:

- (A) 長さ: 97アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(ix) 特徴:

- (A) 名称/キー: 蛋白質
- (B) 部位: 1. . 97
- (D) 他の情報: /標識=一般配列5

/付記=各Xaaはそれぞれ別個に、明細書に規定された、1つ以上の特定されたアミノ酸の群から選ばれる

(xi) 配列の記載: 配列番号30:

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:30:

```

Leu Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Xaa
1              5              10              15
Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly Xaa Cys Xaa Xaa Pro
      20              25              30
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn His Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
      35              40              45
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Cys Xaa Pro
      50              55              60

```

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 65 70 75 80
 Val Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val Xaa Xaa Cys Xaa Cys
 85 90 95
 Xaa

(2) 配列番号 31 の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 102 アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(ix) 特徴:

(A) 名称/キー: 蛋白質

(B) 部位: 1. . . 102

(D) 他の情報: /標識=一般配列 6

/付記=各 X a a はそれぞれ別個に、明細書に規定された、1つ以
 上の特定されたアミノ酸の群から選ばれる

(xi) 配列の記載: 配列番号 31:

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Gly Trp Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Trp Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Xaa Tyr Cys Xaa Gly
 20 25 30
 Xaa Cys Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn His Ala
 35 40 45
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55 60
 Xaa Cys Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
 65 70 75 80
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Met Xaa Val
 85 90 95
 Xaa Xaa Cys Xaa Cys Xaa
 100

(2) 配列番号 32 の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 1247塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: cDNA

(vi) 由来:

(A) 名称: ホモサピエンス

(F) 組織型: 脳

(ix) 特徴

(A) 名称/キー: CDS

(B) 部位: 84...1199

(D) 他の情報: /産物= "GDF-1"

/付記= "GDF-1 CDNA"

(xi) 配列の記載: 配列番号32:

GGGGACACCG GCGCCGCCCT CAGCCCACTG GTCCCGGGCC GCCGCGGACC CTGCGCACTC	60
TCTGGTCATC GCCTGGGAGG AAG ATG CCA CCG CCG CAG CAA GGT CCC TGC	110
Met Pro Pro Pro Gln Gln Gly Pro Cys	
1 5	
GGC CAC CAC CTC CTC CTC CTC CTG GCC CTG CTG CTG CCC TCG CTG CCC	158
Gly His His Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Pro Ser Leu Pro	
10 15 20 25	
CTG ACC CGC GCC CCC GTG CCC CCA GGC CCA GCC GCC GCC CTG CTC CAG	206
Leu Thr Arg Ala Pro Val Pro Pro Gly Pro Ala Ala Ala Leu Leu Gln	
30 35 40	
GCT CTA GGA CTG CGC GAT GAG CCC CAG GGT GCC CCC AGG CTC CGG CCG	254
Ala Leu Gly Leu Arg Asp Glu Pro Gln Gly Ala Pro Arg Leu Arg Pro	
45 50 55	
GTT CCC CCG GTC ATG TGG CGC CTG TTT CGA CGC CGG GAC CCC CAG GAG	302
Val Pro Pro Val Met Trp Arg Leu Phe Arg Arg Arg Asp Pro Gln Glu	
60 65 70	
ACC AGG TCT GGC TCG CGG CGG ACG TCC CCA GGG GTC ACC CTG CAA CCG	350
Thr Arg Ser Gly Ser Arg Arg Thr Ser Pro Gly Val Thr Leu Gln Pro	
75 80 85	
TGC CAC GTG GAG GAG CTG GGG GTC GCC GGA AAC ATC GTG CGC CAC ATC	398
Cys His Val Glu Glu Leu Gly Val Ala Gly Asn Ile Val Arg His Ile	
90 95 100 105	

CCG GAC CGC GGT GCG CCC ACC CGG GCC TCG GAG CCT GTC TCG GCC GCG Pro Asp Arg Gly Ala Pro Thr Arg Ala Ser Glu Pro Val Ser Ala Ala 110 115 120	446
GGG CAT TGC CCT GAG TGG ACA GTC GTC TTC GAC CTG TCG GCT GTG GAA Gly His Cys Pro Glu Trp Thr Val Val Phe Asp Leu Ser Ala Val Glu 125 130 135	494
CCC GCT GAG CGC CCG AGC CGG GCC CGC CTG GAG CTG CGT TTC GCG GCG Pro Ala Glu Arg Pro Ser Arg Ala Arg Leu Glu Leu Arg Phe Ala Ala 140 145 150	542
GCG GCG GCG GCA GCC CCG GAG GCG GGC TGG GAG CTG AGC GTG GCG CAA Ala Ala Ala Ala Ala Pro Glu Gly Gly Trp Glu Leu Ser Val Ala Gln 155 160 165	590
GCG GGC CAG GGC GCG GGC GCG GAC CCC GGG CCG GTG CTG CTC GCG CAG Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Asp Pro Gly Pro Val Leu Leu Arg Gln 170 175 180 185	638
TTG GTG CCC GCC CTG GGG CCG CCA GTG CGC GCG GAG CTG CTG GGC GCC Leu Val Pro Ala Leu Gly Pro Pro Val Arg Ala Glu Leu Leu Gly Ala 190 195 200	686
GCT TGG GCT CGC AAC GCC TCA TGG CCG CGC AGC CTC CGC CTG GCG CTG Ala Trp Ala Arg Asn Ala Ser Trp Pro Arg Ser Leu Arg Leu Ala Leu 205 210 215	734
GCG CTA CGC CCC CGG GCC CCT GCC GCC TGC GCG CGC CTG GCC GAG GCC Ala Leu Arg Pro Arg Ala Pro Ala Ala Cys Ala Arg Leu Ala Glu Ala 220 225 230	782
TCG CTG CTG CTG GTG ACC CTC GAC CCG CGC CTG TGC CAC CCC CTG GCC Ser Leu Leu Leu Val Thr Leu Asp Pro Arg Leu Cys His Pro Leu Ala 235 240 245	830
CGG CCG CGG CGC GAC GCC GAA CCC GTG TTG GGC GGC GGC CCC GGG GGC Arg Pro Arg Arg Asp Ala Glu Pro Val Leu Gly Gly Gly Pro Gly Gly 250 255 260 265	878
GCT TGT CGC GCG CGG CCG CTG TAC GTG AGC TTC CGC GAG GTG GGC TGG Ala Cys Arg Ala Arg Arg Leu Tyr Val Ser Phe Arg Glu Val Gly Trp 270 275 280	926
CAC CGC TGG GTC ATC GCG CCG CGC GGC TTC CTG GCC AAC TAC TGC CAG His Arg Trp Val Ile Ala Pro Arg Gly Phe Leu Ala Asn Tyr Cys Gln 285 290 295	974
GGT CAG TGC GCG CTG CCC GTC GCG CTG TCG GGG TCC GGG GGC CCG CCG Gly Gln Cys Ala Leu Pro Val Ala Leu Ser Gly Ser Gly Gly Pro Pro 300 305 310	1022

GCG CTC AAC CAC GCT GTG CTG CGC GCG CTC ATG CAC GCG GCC GCC CCG 1070
 Ala Leu Asn His Ala Val Leu Arg Ala Leu Met His Ala Ala Ala Pro
 315 320 325

GGA GCC GCC GAC CTG CCC TGC TGC GTG CCC GCG CGC CTG TCG CCC ATC 1118
 Gly Ala Ala Asp Leu Pro Cys Cys Val Pro Ala Arg Leu Ser Pro Ile
 330 335 340 345

TCC GTG CTC TTC TTT GAC AAC AGC GAC AAC GTG GTG CTG CGG CAG TAT 1166
 Ser Val Leu Phe Phe Asp Asn Ser Asp Asn Val Val Leu Arg Gln Tyr
 350 355 360

GAG GAC ATG GTG GTG GAC GAG TGC GGC TGC CGC TAACCCGGGG CGGGCAGGGA 1219
 Glu Asp Met Val Val Asp Glu Cys Gly Cys Arg
 365 370

CCCGGGCCCA ACAATAAATG CCGCGTGG 1247

(2) 配列番号33の情報:

(i) 配列の性状:

(A) 長さ: 372アミノ酸

(B) 型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: 蛋白質

(xi) 配列の記載: 配列番号33:

Met Pro Pro Pro Gln Gln Gly Pro Cys Gly His His Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Leu Leu Pro Ser Leu Pro Leu Thr Arg Ala Pro Val Pro
 20 25 30

Pro Gly Pro Ala Ala Ala Leu Leu Gln Ala Leu Gly Leu Arg Asp Glu
 35 40 45

Pro Gln Gly Ala Pro Arg Leu Arg Pro Val Pro Pro Val Met Trp Arg
 50 55 60

Leu Phe Arg Arg Arg Asp Pro Gln Glu Thr Arg Ser Gly Ser Arg Arg
 65 70 75 80

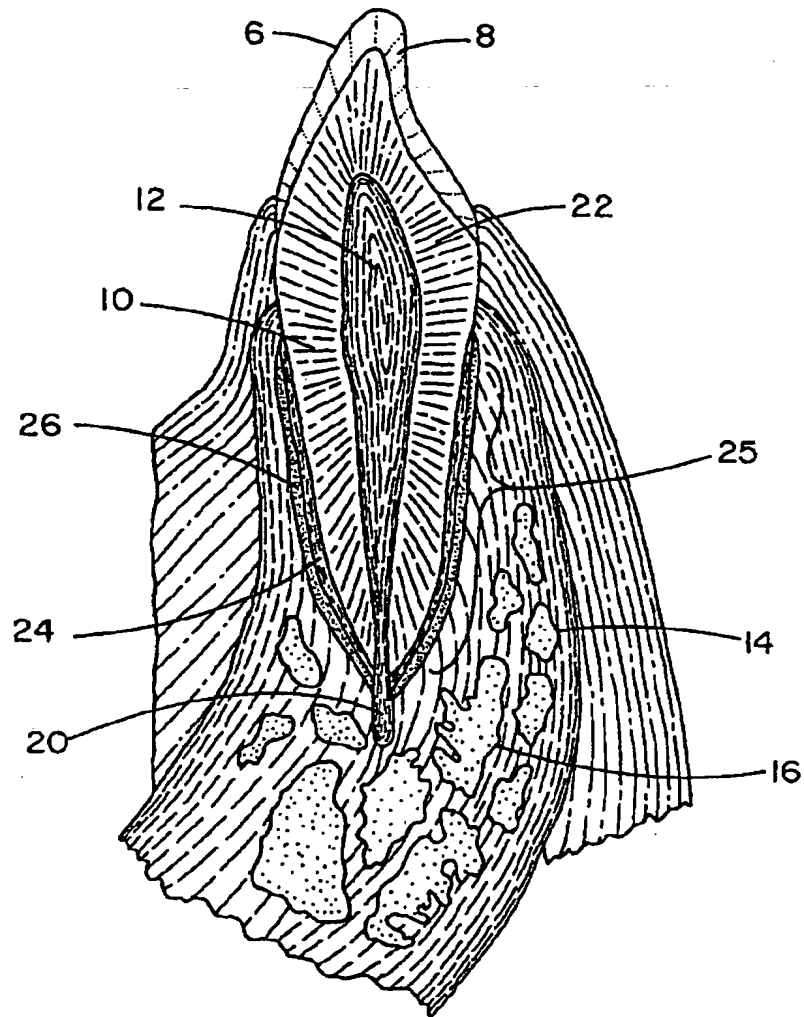
Thr Ser Pro Gly Val Thr Leu Gln Pro Cys His Val Glu Glu Leu Gly
 85 90 95

Val Ala Gly Asn Ile Val Arg His Ile Pro Asp Arg Gly Ala Pro Thr
 100 105 110

Arg Ala Ser Glu Pro Val Ser Ala Ala Gly His Cys Pro Glu Trp Thr
 115 120 125

Val Val Phe Asp Leu Ser Ala Val Glu Pro Ala Glu Arg Pro Ser Arg
 130 135 140
 Ala Arg Leu Glu Leu Arg Phe Ala Ala Ala Ala Ala Ala Pro Glu
 145 150 155 160
 Gly Gly Trp Glu Leu Ser Val Ala Gln Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 165 170 175
 Asp Pro Gly Pro Val Leu Leu Arg Gln Leu Val Pro Ala Leu Gly Pro
 180 185 190
 Pro Val Arg Ala Glu Leu Leu Gly Ala Ala Trp Ala Arg Asn Ala Ser
 195 200 205
 Trp Pro Arg Ser Leu Arg Leu Ala Leu Ala Leu Arg Pro Arg Ala Pro
 210 215 220
 Ala Ala Cys Ala Arg Leu Ala Glu Ala Ser Leu Leu Leu Val Thr Leu
 225 230 235 240
 Asp Pro Arg Leu Cys His Pro Leu Ala Arg Pro Arg Arg Asp Ala Glu
 245 250 255
 Pro Val Leu Gly Gly Gly Pro Gly Gly Ala Cys Arg Ala Arg Arg Leu
 260 265 270
 Tyr Val Ser Phe Arg Glu Val Gly Trp His Arg Trp Val Ile Ala Pro
 275 280 285
 Arg Gly Phe Leu Ala Asn Tyr Cys Gln Gly Gln Cys Ala Leu Pro Val
 290 295 300
 Ala Leu Ser Gly Ser Gly Gly Pro Pro Ala Leu Asn His Ala Val Leu
 305 310 315 320
 Arg Ala Leu Met His Ala Ala Ala Pro Gly Ala Ala Asp Leu Pro Cys
 325 330 335
 Cys Val Pro Ala Arg Leu Ser Pro Ile Ser Val Leu Phe Phe Asp Asn
 340 345 350
 Ser Asp Asn Val Val Leu Arg Gln Tyr Glu Asp Met Val Val Asp Glu
 355 360 365
 Cys Gly Cys Arg
 370

【图1】

*Fig.1*

【図2A】

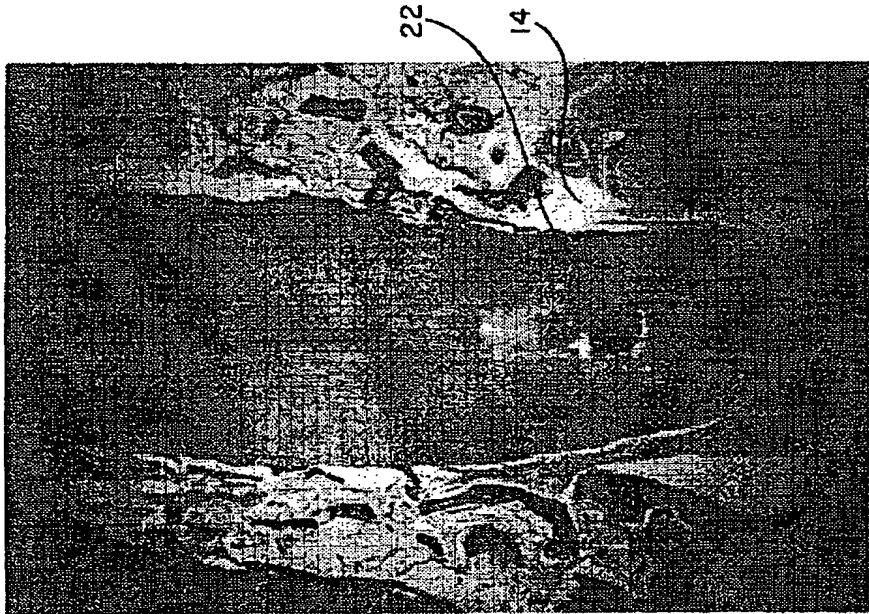


Fig. 2A

【図2B】

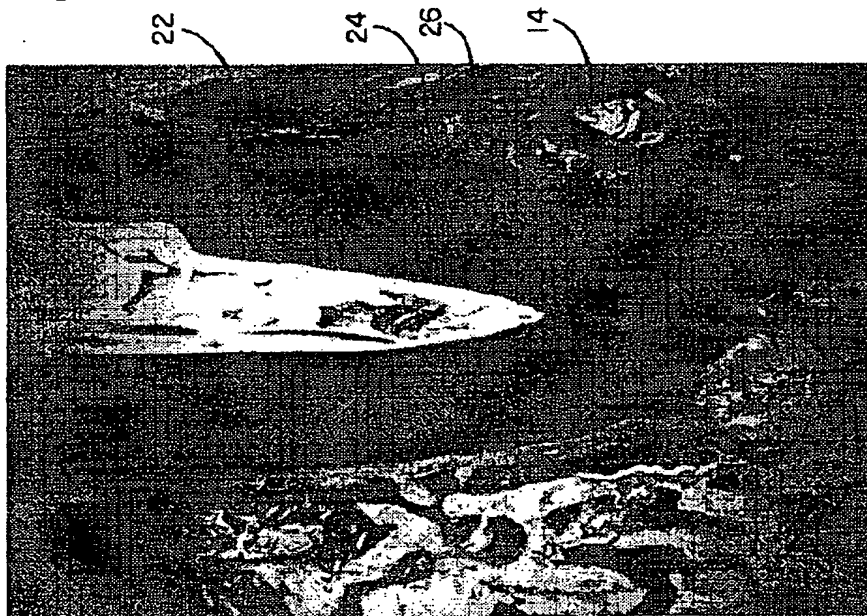


Fig. 2B

【図3A】

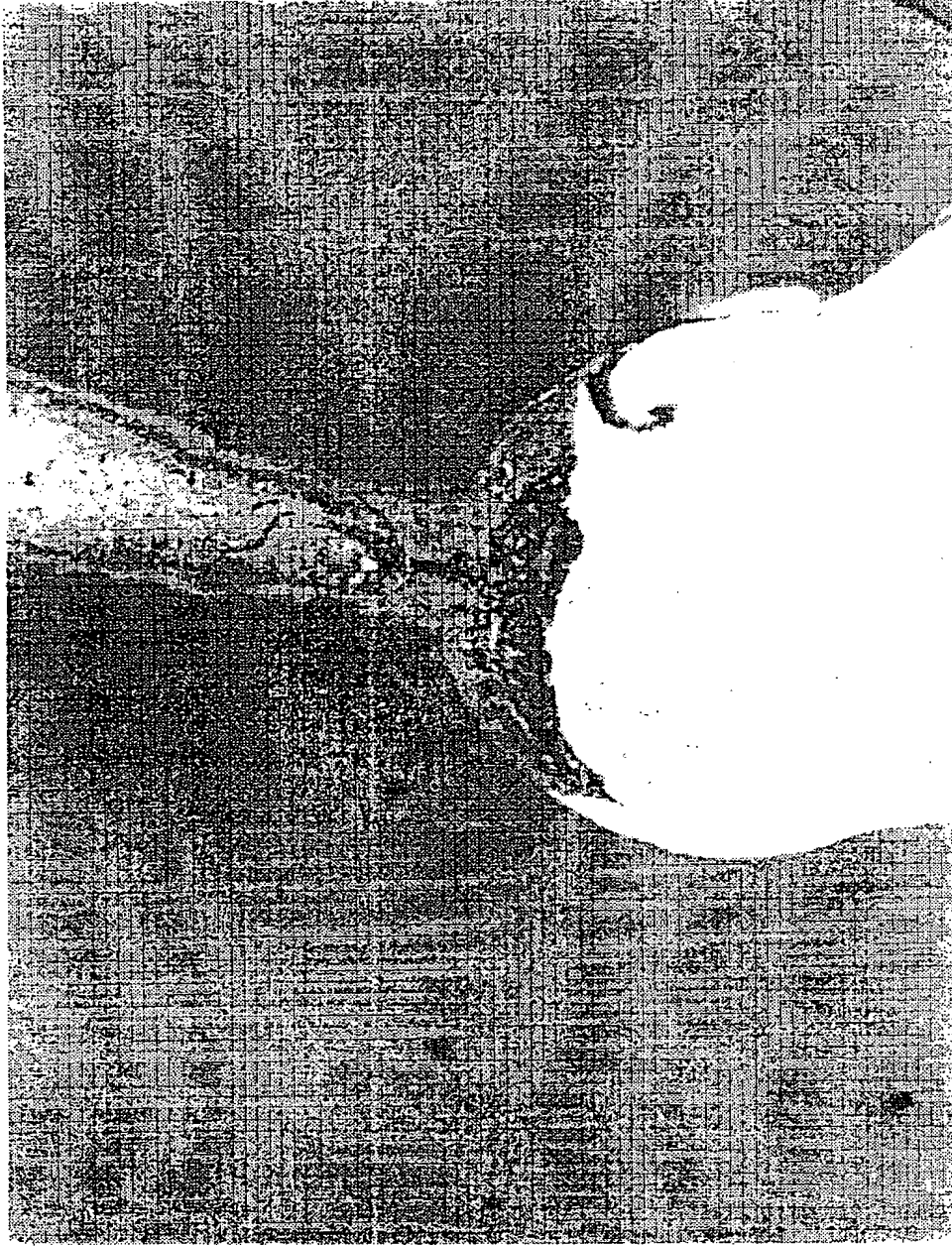


Fig. 3A

【図3B】



Fig. 3B

【手続補正書】特許法第184条の8

【提出日】1994年9月15日

【補正内容】

英文明細書第2頁第8行から同頁第32行

(明細書翻訳文第1頁下から第4行から第2頁第9行)

歯周組織損失は組織、あるいは歯自身に対する、特に歯の損失につながるような機械的損傷の結果からもおこりうる。歯の損失は、また、多くの歯の病気例えば、虫歯、歯髄炎、あるいは骨髄炎等の結果からもおこりうる。

活きた歯はもし損失直後に、例えば30分以内に、そしてもし歯槽内の歯周組織がまだ健全であれば移植すれば、再移植できる。しかしながら、かなり長い時間が経過してしまうと、歯槽に沿った活着している歯周組織は再吸収されるであろう。さらに、歯自身が分解を始め、義歯や取り外し可能なブリッジが移植されなければならなくなる。健全な歯周組織がない場合、義歯が、硬直（骨組織が象牙質と直接接触している）と呼ばれる状況下で直接顎骨組織に移植される。そのような義歯移植の寿命は歯の固定を早進したり、義歯の咀嚼の衝撃を吸収する活きた歯周組織が無いためしばしば限度がある。

国際出願公開番号 WO88/00205（ワンら、発明者）は、軟骨および硬骨の形成を誘導することができる4個の当該哺乳動物蛋白質のcDNA配列を開示している。これらの3個の蛋白質、BMP-1、BMP-2クラスI（BMP-2）、BMP-2クラスII（BMP-4）をコードする核酸がヒト、及びウシの発現ライブラリーから単離された。BMP-3をコードする核酸はウシの発現ライブラリーから単離された。WO88/00205は、4個の蛋白質の各々は骨折も含む骨欠損の治療、脳顔面頭蓋の欠損修復、人工関節の固定、歯周病の治療、及び歯の修復過程の方法に用いることができることを教示している。この公報に示されているデータでは、精製された組み換えヒトBMP-1がラット基質と混合し、サンパスとレディ（1983）、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、80:6591-6595、の方法に従って *in vivo* で移植し、軟骨様結節の形成を誘導するのを示している。

国際出願公開番号WO90/10017号（テラノフ、発明者）に歯周靱帯細

胞誘引因子（PDL-CTX）が開示されており、これは人工基底膜上で歯周靱帯細胞の移動と増殖を誘導することが判明している。従って、WO90/10017はPDL-CTXは骨あるいは歯周組織の再生に有用である可能性を示唆している。その因子は、各々約12、500ダルトンの分子量を有するポリペプチドの4量体として特徴づけられている。この公報は、さらに歯周組織再生の方法のガイドラインを示しており、そこでは、歯周靱帯細胞が患者より取り出され、培養され、PDL-CTXに対する走化性の反応性より選択される。このように、PDL-CTX溶液に選択された細胞を懸濁させ、患者の歯に投与し、その後、処置された区域を人工基底膜で被覆する。しかしながら、WO90/10017はこの再生方法の結果を開示していない。

本発明の目的は損傷した歯周組織の再生を誘導する手段のみではなく歯周組織損失を抑制する手段をも提供することにある。他の目的は歯周病や歯肉病と関連する歯の損傷及び歯の損失を抑制する手段を提供することにある。

本発明の目的は、歯周組織損失を抑制する手段、及び損傷した歯周組織の再生を誘導する手段を提供することにある。

請求の範囲

1. 哺乳動物の歯槽において、歯の形成を昂進する方法で以下のステップからなる方法：

当該濃度が、当該歯槽内で歯周組織形態形成を誘導するのに十分である治療的に有効な濃度のモルフォゲンを歯槽表面または歯根外部表面に供給する。

2. 当該歯槽が、損失した、損傷した、若しくは生育不能の歯周組織からなる請求項1記載の方法。

3. 当該歯が移植歯で、当該モルフォゲンが当該歯槽にそれを移植する前に当該歯根の外部表面に供給される請求項1記載の方法。

4. 当該歯槽に当該歯を移植するための歯または哺乳動物の歯槽を調製する方法で当該歯槽の生育可能な歯周組織が著しく減少しており、以下のステップからなる方法：

(a) 新鮮な歯槽骨の表面をそれに曝して当該歯を受ける当該歯槽を調製し；
そして

(b) 当該濃度が当該表面で歯周組織の形態形成を誘導するのに十分なものである、治療的に有効な濃度のモルフォゲンを、当該調製された歯槽内の歯根の外部表面及び新鮮な歯槽骨のむき出された表面から選択された表面に供給する。

5. 当該歯槽の生育可能な歯周組織が著しく減少している哺乳動物の歯槽に歯を移植する方法で以下のステップからなる方法。

(a) 新鮮な歯槽骨表面をそれにむき出しにすることにより歯を受ける当該歯槽を調製し；(b) 当該濃度が当該表面で歯周組織の形態形成を誘導するのに十分なものである、治療的に有効な濃度のモルフォゲンを、当該調製された歯槽内の歯根の外部表面及び新鮮な歯槽骨のむき出された表面から選択された表面に供給し；そして

(c) 当該調製された歯槽に当該歯を移植する。

6. 当該歯根の外部表面が、当該モルフォゲンと接触する前に部分的に脱灰されている請求項 4 あるいは 5 記載の方法。

7. 当該歯が義歯である請求項 1、3、4、あるいは 5 記載の方法。

8. 当該歯が同種異系若しくは自系の歯である請求項 1、3、4、5、あるいは 6 記載の方法。

9. 哺乳動物の歯槽内で歯周組織を再生する方法で以下のステップからなる方法：

当該濃度が当該表面で歯周組織の形態形成を誘導するのに十分なものである、治療的に有効な濃度のモルフォゲンを、当該歯槽へ供給する。

10. 当該モルフォゲン治療濃度がセメント芽細胞若しくは歯周芽細胞の増殖及び分化を誘導するのに十分なものである請求項 1、4、5、あるいは 9 記載の方法。

11. 当該モルフォゲン治療濃度が歯周靱帯またはセメント質の形成を誘導するのに十分なものである請求項 10 記載の方法。

12. 歯周病と関連する組織損傷を抑制する方法で以下のステップからなる方法

当該濃度が当該組織の炎症を抑制し、若しくは当該組織の分化した歯周組織の表現型を維持するのに十分な治療的に有効なモルフォゲンを当該損傷の恐れのある歯周組織に供給する。

13. モルフォゲンを当該哺乳動物に投与することにより当該モルフォゲンを当該組織に供給する請求項1、4、5、9、あるいは12記載の方法

14. 当該モルフォゲンを局所投与、若しくは局注により当該組織へ直接投与する方法。

15. 当該モルフォゲンが、無細胞基質材に分散された当該哺乳動物に投与される請求項14記載の方法。

16. 当該基質材が、象牙質、歯周靱帯、骨、若しくはセメント質組織由来のものである請求項15記載の方法。

17. 当該モルフォゲン治療濃度が、約50 μ g以下である請求項14記載の方法。

18. 当該モルフォゲン治療濃度が、約25 μ g以下である請求項14記載の方法。

19. 当該モルフォゲンが、治療的に有効な濃度の内因性のモルフォゲンの産生、若しくは発現を *in vivo* で促進する薬剤を当該哺乳動物に投与することにより当該組織に供給される請求項1、4、5、9、あるいは12記載の方法。

20. 当該薬剤が歯周組織、象牙質、若しくは歯槽骨以外の組織でモルフォゲンの発現を促進する請求項19記載の方法。

21. 哺乳動物の歯周組織の損失抑制あるいは再生促進する組成物で、歯周病と関連する症状を緩和する補助因子と共同して、当該モルフォゲン濃度が歯周組織の形態形成を誘導するのに十分な治療濃度のモルフォゲンからなる組成物。

22. 当該補助因子が、抗生物質、抗感染剤、鎮痛剤、麻酔剤、若しくは非ステロイド性抗炎症剤からなる請求項21記載の組成物。

23. 当該モルフォゲンが無細胞基質に散布されている請求項21記載の組成物

。

24. 当該無細胞基質が、象牙質、骨、歯周靱帯、若しくはセメント質組織である請求項23記載の組成物。

25. 当該組成物が高粘度溶液からなる請求項21記載の組成物。

26. 当該モルフォゲンが一对のポリペプチドからなる2量体蛋白質で、その各々のアミノ酸配列が以下のものからなる請求項21記載の組成物：

(a) 配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末の7個のシステインドメインと少なくとも70%の相同性を共有する配列；

(b) 配列表番号31、一般配列6で特定される配列；若しくは

(c) 配列表番号16のヌクレオチド1036-1341で特定されるDNA配列と厳密な条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされる配列。

27. 当該一对のポリペプチドのアミノ酸配列が配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末の7個のシステインドメインと少なくとも80%の相同性を共有する配列からなる請求項26記載の組成物。

28. 当該モルフォゲンポリペプチドのアミノ酸配列が配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末の7個のシステインドメインと60%以上の

アミノ酸同一性を有する配列からなる請求項27記載の組成物。

29. 当該モルフォゲンポリペプチドのアミノ酸配列が配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末システインドメインと65%以上のアミノ酸同一性を有する配列からなる請求項28記載の組成物。

30. 当該モルフォゲンポリペプチドの少なくとも一つのアミノ酸配列が、配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末システインドメインおよびそれらの対立形質及び種の変種から選択された配列からなる請求項29記載の組成物。

31. 当該モルフォゲンポリペプチドのアミノ酸が、OPX、配列表番号29で特定される配列からなる請求項26記載の組成物。

32. 当該モルフォゲンが、それらの対立形質の、種の、及び生物合成の配列変種も含むモルフォゲンファミリーのプロドメインから選択され、さらに当該プロ

ドメインペプチドは当該プロドメインの蛋白分解酵素分解フラグメントペプチドの全長型から選択される少なくとも一つのプロドメインペプチドと複合体を形成する請求項 26 記載の組成物。

33. 当該モルフォゲンが、それらの対立形質の、種の、及び生物合成の配列変種も含むモルフォゲンファミリーのプロドメインN末の18のアミノ酸から選択された少なくとも18のアミノ酸ペプチドからなる少なくとも一つのプロドメインペプチドと複合体を形成する請求項 26 記載の組成物。

34. 当該モルフォゲンが、配列表番号 16 のヌクレオチド 136-192、若しくは配列表番号 20 のヌクレオチド 157-211 の配列を有する核酸と厳密な条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされる少なくとも一つのプロドメインペプチドと複合体を形成する請求項 29 記載の組成物。

35. 当該モルフォゲンが、二つの当該ドメインペプチドと複合体を形成する請求項 32、33、あるいは34 記載の組成物。

36. 当該モルフォゲン種が、当該ペプチドと非共有結合的に複合体を形成する請求項 32、33、あるいは34 記載の組成物。

37 さらに塩基性アミノ酸、界面活性剤、若しくは担体蛋白質からなる請求項 3

2、33、あるいは34 記載の組成物。

38. 哺乳動物の歯周組織の形態形成を誘導する医薬品の製造におけるモルフォゲンの使用。

39. 歯周病での組織損失を抑制する歯周組織の形態形成を誘導する目的での請求項 38 記載による使用。

40. 損失した、損傷した、若しくは生育不能な歯周組織を再生する歯周組織形態形成を誘導する目的での請求項 38 記載による使用。

41. 哺乳類の歯槽内で歯の形成を昂進する目的での請求項 38 記載による使用。

42. 当該医薬品がさらに歯周組織損傷と関連する症状緩和補助因子からなる請求項 38 記載による使用。

43 当該医薬品が歯周組織へ局所投与若しくは局所注射に適切である請求項 42

記載による使用。

44. 当該モルフォゲンが一对のポリペプチドからなる2量体蛋白質で、各々のアミノ酸配列が以下のものからなるものである請求項38、39、40、41、42、あるいは43記載による使用：

(a) 配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末の7個のシステインドメインと少なくとも70%の相同性を共有する配列；

(b) 配列表番号31、一般配列6で特定される配列；若しくは

(c) 配列表番号16のヌクレオチド1036-1341で特定されるDNA配列と厳密な条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされる配列。

45. 当該モルフォゲンポリペプチドのアミノ酸配列が、配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末の7個のシステインドメインと60%以上のアミノ酸同一性を有する配列からなる請求項44記載による使用。

46. 当該モルフォゲンポリペプチドの少なくとも一つのアミノ酸配列が、配列表番号5の残基38-139のヒトOP-1のC末システインドメインおよびそれらの対立形質及び種の変種から選択された配列からなる請求項45記載の使用。

47. 当該モルフォゲンポリペプチドのアミノ酸が、OPX、配列表番号29で

特定される配列からなる請求項44記載による使用。

48. 当該モルフォゲンが、それらの対立形質の、種の、及び生物合成の配列変種も含むモルフォゲンファミリーのプロドメインから選択され、当該プロドメインはさらに当該プロドメインの蛋白分解酵素分解フラグメントペプチドの全長型から選択される少なくとも一つのプロドメインペプチドと複合体を形成する請求項44記載による使用。

49. 当該モルフォゲンが、それらの対立形質の、種の、及び生物合成の配列変種も含むモルフォゲンファミリーのプロドメインN末の18のアミノ酸から選択された少なくとも18のアミノ酸ペプチドからなるプロドメインペプチドの少なくとも一つと複合体を形成する請求項48記載の組成物。

50. 当該モルフォゲンが、配列表番号16のヌクレオチド136-192、若

しくは配列表番号 20 のヌクレオチド 157-211 の配列を有する核酸と厳密な条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされるプロドメインペプチドの少なくとも一つと複合体を形成する請求項 44 記載の組成物。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In national Application No

PCT/US 93/08742

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 A61K6/00 A61L27/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 5 A61K A61L C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO, A, 92 15323 (CREATIVE BIOMOLECULES) 17 September 1992 cited in the application see page 7, line 1 - line 8 see page 13, line 5 - page 14, line 11 see claims; tables ---	1-75
X	WO, A, 88 00205 (GENETICS INSTITUTE) 14 January 1988 see claims; tables see page 9, line 7 see page 9, paragraph 2 see page 10, last paragraph - page 11, paragraph 1 --- -/--	1-29, 35-37, 49, 59-62

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 December 1993

Date of mailing of the international search report

29. 12. 93

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 65) epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cousins-Van Steen, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In International Application No.
PCT/US 93/08742

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages

Relevant to claim No.

Y EP,A,0 495 284 (OSTEOTECH, INC.) 22 July
1992
see claims; examples
see column 7, line 25 - column 9, line 42

1-51,
58-67

Y US,A,5 011 691 (H. OPPERMANN) 30 April
1991
cited in the application
see column 7, line 66 - column 8, line 23;
claims; tables

1-51,
58-67

A WO,A,90 10017 (CYTOTAXIS, INC.) 7
September 1990

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 93/08742

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.: X
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
REMARK: Although claims 1-34, 52-54, 58 and 68-75 (partly) are directed to a method of treatment of the human body the search has been carried out and based on the alleged effects of the composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern. Application No

PCT/US 93/08742

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9215323	17-09-92	AU-A- 1754392	06-10-92
WO-A-8800205	14-01-88	US-A- 4877864	31-10-89
		AU-B- 613314	01-08-91
		AU-A- 7783587	29-01-88
		EP-A- 0313578	03-05-89
		JP-T- 2500241	01-02-90
		US-A- 5013649	07-05-91
		US-A- 5166058	24-11-92
		US-A- 5187076	16-02-93
		US-A- 5116738	26-05-92
		US-A- 5106748	21-04-92
		US-A- 5108922	28-04-92
		US-A- 5141905	25-08-92
EP-A-0495284	22-07-92	US-A- 5236456	17-08-93
		JP-A- 4246359	02-09-92
US-A-5011691	30-04-91	US-A- 5002770	26-03-91
		AU-B- 628050	10-09-92
		AU-A- 3444989	03-11-89
		AU-B- 618357	19-12-91
		AU-A- 3530589	03-11-89
		AU-B- 627850	03-09-92
		AU-A- 5174790	26-09-90
		EP-A- 0372031	13-06-90
		EP-A- 0362367	11-04-90
		EP-A- 0411105	06-02-91
		JP-T- 3504736	17-10-91
		JP-T- 3500655	14-02-91
		JP-T- 3502579	13-06-91
		WO-A- 8909787	19-10-89
		WO-A- 8909788	19-10-89
		WO-A- 9010018	07-09-90
		US-A- 4975526	04-12-90
		US-A- 5171574	15-12-92
		US-A- 5162114	10-11-92
		US-A- 5182365	26-01-93
		US-A- 5258494	02-11-93

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 93/08742

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9010017	07-09-90	AU-A- 5197790	26-09-90
		CA-A- 2027583	24-08-90
		EP-A- 0413794	27-02-91
		JP-T- 3505218	14-11-91

(51) Int. Cl. 6 識別記号 庁内整理番号 F I

14/495

14/51

8318-4H

C 1 2 N 15/09

ZNA

(31)優先権主張番号 040, 510

(32) 優先日 1993年3月31日

(33) 優先權主張国 米国 (US)

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AT, AU, BB, BG, BR, CA, CH, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, JP, KP, KR, LK, LU, MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SK, UA

(72) 発明者 ルーガー、ディウッド シー、
アメリカ合衆国 01748 マサチューセツ
ツ、ホプキントン、ダウネイ ストリート
19

(72) 発明者 オパーマン, ハーマン
アメリカ合衆国 02053 マサチューセツ
ツ, メドウェイ, サマー ヒル ロード
25

(72) 発明者 コーエン, チャールズ エム.
アメリカ合衆国 02053 マサチューセツ
ツ, メドウエイ, ウインスロブ ストリー
ト 98

(72) 発明者 パング, ロイ エッチ. エル.
アメリカ合衆国 03750 ニュー ハンプ
シャー, エトナ, パートリッジ ロード
15

(72) 発明者 スマート, ジョン イー.
アメリカ合衆国 02193 マサチューセツ
ツ, ウェストン, メドウ ブルック ロー
ド 50

(72) 発明者 オズカイナック、エンジン
アメリカ合衆国 01757 マサチューセッ
ツ、ミルフォード、パーデュー ドライブ
44

【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成13年2月13日(2001. 2. 13)

【公表番号】特表平8-501779

【公表日】平成8年2月27日(1996. 2. 27)

【年通号数】

【出願番号】特願平6-508301

【国際特許分類第7版】

A61K 38/17 ACK

6/00 ADS

45/08

// C07K 14/435

14/495

14/51

C12N 15/09 ZNA

【F I】

A61K 37/12 ACK

6/00 ADS Z

45/08

C07K 14/435

14/495

14/51

C12N 15/00 ZNA A

手続補正書

平成12年9月12日

特許庁長官 及 川 井 浩 二

1. 事件の表示 平成6年特許願第508301号

2. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名 称 クリエイティブ バイオモレキュلز、
インコーポレイテッド

3. 代 理 人

住 所 東京都港区四谷1丁目5番1号

〒表ビル8階

郵便番号 150-0004 電話 0328-18671

氏 名 (5094) 丹理士 藤 野 清

4. 補正対象書類名 明細書

5. 補正対象項目名 「結晶の範囲」、「発明の要約」、「図面の簡単な説明」
および「詳細な説明」の欄

6. 補正の内容

(1) 明細書の請求の範囲を別紙のとおり補正する。

(2) 同書第3頁第20行の「人に」と「哺乳類の動物に」と補正する。

(3) 同書第3頁第22行の「人に」と削除する。

(4) 同書第3頁第24行の「化合物を」と「化合物を個体に」と補正する。

(5) 同書第2頁第21～22行を次のとおり補正する。

「Cys Ioo Xaa Xaa Xaa (配列番号15)」

1 5

(6) 同書第19頁第13～15行の「同様に、一般に……」を「同様に、一般に……」と補正する。

(7) 同書第19頁第13～15行の「同様に、一般に……」を「同様に、一般に……」と補正する。

(8) 同書第28頁第14行の「1036-134」を「1036-1341」と補正する。

(9) 同書第30頁第20行の「発芽芽細胞」を「発芽芽細胞」と補正する。

(10) 同書第30頁第21行の「は、同様に」と補正する。

(11) 同書第37頁第7及び8行の「Ser ……」を「Ser ……」と補正する。

(12) 同書第43頁第8～9行の「メルフォゲンが直接（例えば、局所に、注射に」

より、例えば、局所あるいは全身に）」を「メルフォゲンが（例え」

ば、局所に注射により、例えば、局所または全身に）」と補正する。

(13) 同書第45頁第7～8行の「0.1-100 μg」を「0.1-100 μg」と補正する。

(14) 同書第45頁第8行の「切取又は大分」を「切取又は大分」と補正する。

(15) 同書第44頁第1～2行の「NAC」を「NAC」と補正する。

(16) 同書第41頁第20行の「の」を削除する。

請求の範囲

1. 歯肉組織傷害に伴う症状を緩和する細胞因子（例えば、抗炎症物質、抗感染剤、鎮痛剤、麻酔剤、又は非ステロイド系抗炎症剤）とともに歯肉組織の形態形成（morphogenesis）を誘導する低濃度のモルフォゲンからなる、治療（例えば、哺乳動物の歯肉組織の創傷を防止し、又は再生を促進するための）に用いるための組成物。

2. (a) 取モルフォゲンが細胞結合質（例えば、象牙質、骨、歯肉組織、若しくはセメント質組織から誘導された）に散布される、及び/又は
(b) 細胞結合質が損傷された歯の組織への局所に適用するために高い粘度の溶液からなる

請求項1に記載の組成物。

9. 該モルフォゲンが一對のポリペプチドからなる二量体蛋白質であり、ポリペプチドそれぞれのアミノ酸配列が、

(a) ヒトOP-1、配列番号5の残基38-139のC末端7システインドメインと少なくとも70%ホモロジー（例えば、少なくとも80%ホモロジー）又は80%を超える同一性（例えば、65%を超える同一性）を有する配列、又は

(b) 一般配列B、配列番号21によって規定される配列からなる請求項1又は2に記載の組成物。

4. 該モルフォゲンポリペプチドの少なくとも一つのアミノ酸配列が、ヒトOP-1、配列番号5の残基38-139のC末端7システインドメイン及びその保守置換変異体から選択された配列からなる請求項9に記載の組成物。

5. 該モルフォゲンポリペプチドのアミノ酸配列、OP-1、配列番号21で規定される配列からなる請求項9に記載の組成物。

6. 該モルフォゲンが、モルフォゲンファミリーの天然及び生合成の保持変異体を含むモルフォゲンファミリーのメンバーのプロドメインから選択

された少なくとも一つと複合体を形成し（例えば、非共有的に）、該プロドメインペプチドは、更にプロドメインの会合型の、低分子量フラグメントペプチドから選択される、請求項1-5のいずれか一つに記載の組成物。

7. 更に、塩基アミノ酸、塩基又は低分子量蛋白質からなる請求項1-6のいずれか一つに記載の組成物。

8. 該モルフォゲンが、モルフォゲン公認哺乳動物細胞の培養媒体から得られるものである請求項1-7のいずれか一つに記載の組成物。

9. 下記(a)、(b)、(c)、(d)又は(e)のための実際の製造におけるモルフォゲンの使用。

(a) 哺乳動物の歯槽（例えば、損失した、損傷した又は生育不能の歯肉組織からなる歯槽）において歯（例えば、歯肉、同種異系の歯又は自家系の歯）の形成を促進する、前記歯槽は歯槽表面又は歯槽外表面への適用に適するものであり、該薬剤は歯肉組織に該表面における形態形成を誘導するために十分な濃度の前記モルフォゲンを供給する（例えば、セメント質形成又は歯肉組織歯槽の増殖及び/又は分化を誘導するために充分であり、及び/又は軟骨又はセメント質の形成を誘導するために充分である）、又は

(b) 哺乳動物の歯槽（例えば、損失した、損傷した又は生育不能の歯肉組織からなる歯槽）において歯（例えば、歯肉、同種異系の歯又は自家系の歯）を、歯槽への歯の移植のために準備する、前記薬剤は歯槽の歯槽骨のフレッシュな表面への、又は歯槽外表面への適用に適するものであり（例えば、歯槽は部分的に脱臼された歯槽からなることとなる）、該薬剤は歯肉組織に該表面における形態形成を誘導するために十分な濃度の前記モルフォゲンを供給する（例えば、セメント質形成又は歯肉組織歯槽の増殖及び/又は分化を誘導するために充分であり、及び/又は軟骨又はセメント質の形成を誘導するために充分である）、又は

(c) 哺乳動物の歯槽（例えば、損失した、損傷した又は生育不能の歯肉組織からなる歯槽）において歯（例えば、歯肉、同種異系の歯又は自家系の歯）を移植する、前記歯槽は歯槽の歯槽骨のフレッシュな表面又は歯槽外表面への適用に適するものであり、該薬剤は歯肉組織に該表面における形態形成を誘導するために十分な濃度の前記モルフォゲンを供給する（例えば、セメント質形成又は歯肉組織歯槽の増殖及び/又は分化を誘導するために充分であり、及び/又は軟骨又はセメント質の形成を誘導するために充分である）、又は

(d) 哺乳動物の歯槽（例えば、損失した、損傷した又は生育不能の歯肉組織からなる歯槽）において歯肉組織を再生する、前記薬剤は歯肉組織にそこにおける形態形成を誘導するために十分な濃度の前記モルフォゲンを供給する（例えば、セメント質形成又は歯肉組織歯槽の増殖及び/又は分化を誘導するために充分であり、及び/又は軟骨又はセメント質の形成を誘導するために充分である）、又は

(e) 歯肉に付着組織損傷を抑制する、前記薬剤は、損傷のリスクを負う歯肉組織に全身的に又は局所的に投与されたとき、当該組織の炎症を抑制する、又は当該組織の分化された歯肉の表現形を維持するために十分な濃度の前記モルフォゲンを供給する。

10. 当該薬剤は、その歯槽が除去され、不活性な、生体親和性の物質（例えば、コラーゲン、セラミック又は金属）に取り替えられている自然歯からなる請求項9に記載の組成物。

11. 薬剤は、更に歯肉組織の損傷に伴う応答を和らげる細胞因子（例えば、抗炎症物質、鎮痛剤、麻酔剤、麻酔剤又は非ステロイド系抗炎症剤）からなる請求項9又は10に記載の組成物。

12. 薬剤が、歯の表面への、又は歯槽骨の露出した表面への局所投与に、又は歯肉組織への局所投与に適用する請求項9-11のいずれか一つに記載の使用。

13. 薬剤が、象牙質、歯肉組織、骨又はセメント質組織から誘導された例

歯肉組織物質に分散された前記薬剤、動物に投与される請求項9-12のいずれか一つに記載の使用。

14. 薬剤が、約50%未満（例えば、約25%未満）の濃度のモルフォゲンからなる請求項9-13のいずれか一つに記載の使用。

15. モルフォゲンが、モルフォゲンを分泌する哺乳動物の細胞の培養媒体から得られるものである請求項9-14のいずれか一つに記載の使用。

16. モルフォゲンが、請求項9-8のいずれかに規定されるものである請求項9-15のいずれか一つに記載の使用。

17. 薬剤が、損傷した象牙質組織への再生誘導のための生体親和性の、各種異種体物質からなる請求項9-12のいずれか一つに記載の使用。

18. モルフォゲンが、残存の生きている歯肉組織からなる哺乳動物の歯槽中に分泌したとき、歯肉組織の再生（例えば、歯槽に骨を固定するのに十分な再生）を誘導する歯槽外表面に投与された該モルフォゲンを有する歯肉又は代替体。

19. 歯肉又は代替体が、

(a) 天然又は合成の象牙質含有物質の完全体、又は

(b) 歯槽が除去され、不活性な、生体親和性の物質（例えば、コラーゲン、セラミック又は金属）に取り替えられている自然歯、又は

(c) 少なくとも部分的に脱臼された歯肉組織又は自家系の自然歯である請求項18に記載の歯肉又は代替体。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.